

Peroxide aus Grindelia robusta N.
Isolierung und Strukturaufklärung von
Grindeliasäurederivaten

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Andrea Herzog

aus

Düsseldorf

Bonn 2004

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Referent: Privat Dozent Dr. D. Manns
2. Referent: Professor Dr. M. Gütschow

Tag der Promotion:

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Juni 1998 bis Januar 2004 am Pharmazeutischen Institut der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn unter der Leitung von Privat Dozent Dr. D. Manns angefertigt.

Mein Dank gilt

Herrn Privat Dozent Dr. Detlef Manns

für die Überlassung des Themas, seine Diskussionsbereitschaft sowie seine wertvollen Anregungen die sehr zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Professor Dr. Michael Gütschow

für die freundliche Übernahme des Korreferates und sein Interesse an meiner Arbeit.

Herrn Professor Dr. Gerhard Rücker

für seine unermüdliche Hilfs- und Diskussionsbereitschaft.

Herrn Dr. Ralf Mayer

für ein stets offenes Ohr und geduldige Erklärungen von phytochemischem Fachwissen.

den Freunden und Kollegen aller Nationalitäten,

die mir in der abwechslungsreichen Zeit am Institut mit Ideen und Ratschlägen zur Seite gestanden haben.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
1 Einleitung und Problemstellung	5
2 Allgemeiner Teil	8
2.1 Botanische Beschreibung von <i>Grindelia robusta</i> N	8
2.2 Taxonomie.....	10
2.3 Medizinische Verwendung von <i>Grindelia robusta</i>	10
2.4 Bisher isolierte Inhaltsstoffe aus <i>Grindelia robusta</i>	12
2.5 Untersuchung von <i>Grindelia robusta</i>	15
2.5.1 Pflanzenmaterial und Extraktion	15
2.5.2 Aufarbeitung von Rohextrakt I	16
2.5.3 Aufarbeitung von Rohextrakt II	17
2.6 Verbindung 1 (7 α -Peroxy-7,8-dihydro-8(17)-engrindelasäure)	18
2.6.1 Ableitung der Summenformel.....	18
2.6.2 Ableitung der Konstitution.....	19
2.6.2.1 NMR-Spektren der Verbindung 1	20
2.6.2.2 Ableitung der Teilstruktur A	33
2.6.2.2.1 Ableitung der Teilstruktur A1	33
2.6.2.2.2 Ableitung der Teilstruktur A2	36
2.6.2.3 Ableitung der Teilstruktur B	38
2.6.2.3.1 Ableitung der Teilstruktur B1	38
2.6.2.3.2 Ableitung der Teilstruktur B2	41
2.6.2.3.3 Ableitung von Ring A	43
2.6.2.3.4 Ableitung der Teilstruktur B3 und Ring B.....	43
2.6.2.4 Ableitung der Teilstruktur C und Ring C.....	47
2.6.2.5 Ableitung der Konstitution der Verbindung 1.....	51
2.6.2.6 Diskussion der Konfiguration von Verbindung 1	52
2.6.2.6.1 Das HH-ROESY-Spektrum und die relative Konfiguration von Verbindung 1	52
2.6.2.6.2 Herleitung der absoluten Konfiguration von Verbindung 1.....	54
2.6.2.7 Zusammenfassung der NMR-Daten der Verbindung 1.....	56
2.6.2.8 Vergleich der NMR-Daten von Verbindung 1 mit ähnlichen Strukturen	59

2.6.3	Überlegungen zur Biosynthese bzw. Darstellung	62
2.7	Verbindung 2 (6 α -Peroxygrindeliensäure)	63
2.7.1	Ableitung der Summenformel	63
2.7.2	Ableitung der Konstitution	64
2.7.2.1	NMR-Spektren der Verbindung 2	66
2.7.2.2	Ableitung der Teilstruktur A	78
2.7.2.2.1	Ableitung der Teilstruktur A1	78
2.7.2.2.2	Ableitung der Teilstruktur A2	81
2.7.2.3	Ableitung der Teilstruktur B	83
2.7.2.3.1	Ableitung der Teilstruktur B 1	83
2.7.2.3.2	Ableitung der Teilstruktur B 2	86
2.7.2.3.3	Ableitung von Ring A	88
2.7.2.3.4	Ableitung der Teilstruktur B3 und Ring B	89
2.7.2.4	Ableitung der Teilstruktur C und Ring C	92
2.7.2.5	Ableitung der Konstitution der Verbindung 2	97
2.7.2.6	Diskussion der Konfiguration der Verbindung 2	98
2.7.2.6.1	Das HH-ROESY-Spektrum und die relative Konfiguration der Verbindung 2	98
2.7.2.6.2	Die absolute Konfiguration von Verbindung 2	99
2.7.2.7	Zusammenfassung der NMR-Daten der Verbindung 2	101
2.7.2.8	Vergleich der NMR-Daten mit ähnlichen Verbindungen	104
2.7.3	Überlegungen zur Biosynthese bzw. Darstellung	107
2.8	Verbindung 3 ((-)-Grindeliensäure)	108
2.9	Photooxidation	108
2.9.1	Ziel der Photooxidation	108
2.9.2	Durchführung	108
2.9.3	Ergebnis	109
3	Experimenteller Teil..	111
3.1	Verwendete Chemikalien und Geräte	111
3.1.1	Lösemittel	111
3.1.2	Sprühreagenzien	111
3.1.3	Dünnschichtchromatographie	112
3.1.4	Säulenchromatographie	112
3.1.5	Geräte	112
3.2	Pflanzenmaterial und Extraktion	113

3.2.1	Aufarbeitung des Dichlormethan-Rohextraktes I	114
3.2.1.1	Vortrennung	114
3.2.1.2	Säulenchromatographische Trennung des Dichlormethanextraktes Ia	114
3.2.1.3	Säulenchromatographische Trennung der Sammelfraktion 4	114
3.2.1.4	Verbindung 1 (7 α -Peroxy-7,8-dihydro-8(17)-engrindelasäure)	115
3.2.2	Aufarbeitung des Dichlormethan-Rohextraktes II.	115
3.2.2.1	Säulenchromatographische Trennung des Dichlormethanextraktes II.....	115
3.2.2.2	Säulenchromatographische Trennung der Sammelfraktion 5	116
3.2.2.3	Säulenchromatographische Trennung des Gemisches 5a	116
3.2.2.4	Verbindung 2 (6 α -Peroxygrindelasäure)	116
3.2.2.5	Säulenchromatographische Trennung der Sammelfraktion 1	117
3.2.2.6	Verbindung 3 ((-)-Grindelasäure)	118
3.3	Photooxidation von Grindelasäure	120
3.3.1	Arbeitsvorschriften.....	120
3.3.1.1	Arbeitsvorschrift mit einem Hg-Hochdruckstrahler	120
3.3.1.2	Arbeitsvorschrift mit einem Hg-Mitteldruckstrahler	121
3.3.2	Ergebnisse der Photooxidationen	122
3.3.3	Aufreinigung der Photooxidationsprodukte	122
4	Zusammenfassung.....	123
5	Literaturverzeichnis.....	125

Abkürzungsverzeichnis

$[\alpha]_D$	Spezifische Drehung
ν	IR-Spektroskopie: Valenzschwingung
δ	IR-Spektroskopie: Deformationsschwingung
	NMR-Spektroskopie: chemische Verschiebung [ppm bzw. Hz/MHz]
λ	Wellenlänge [nm]
Ac	Aceton
ax	axial
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
dc	dünnschichtchromatographisch
DC	Dünnschichtchromatogramm
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer</i> (Unterscheidung von CH, CH ₂ und CH ₃ mit dem Empfindlichkeitsgewinn des Polarisationstransfers)
EE	Essigsäureethylester
eq	equatorial
FAB	<i>Fast Atom Bombardement</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Coherence</i>
I	Intensität
J	Kopplungskonstante [Hz]
¹ J	Kopplung über eine Bindung
² J, ³ J, ⁴ J, ⁵ J	Kopplung über zwei, drei, vier oder fünf Bindungen
KG	Kieselgel
LM	Lösungsmittel
mNBA	m-Nitrobenzylalkohol
Multiplett Kürzel:	
s	Singulett
ps	Pseudosingulett
d	Dublett
t	Triplett
q	Quartett
m	Multiplett ohne erkennbare Feinstruktur
m/z	Quotient aus der Masse eines Ions und seiner Ladung
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
PE	Petrolether (40 – 60 °C)
R _f	Retentionsfaktor
ROESY	Rotating frame Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
sc	säulenchromatographisch
SC	Säulenchromatographie
THF	Tetrahydrofuran

1 Einleitung und Problemstellung

Peroxide als Pflanzeninhaltsstoffe haben in den letzten Jahren an Interesse gewonnen, da die reaktive Peroxidfunktion ein breites Spektrum biologischer Wirkungen erwarten lässt. So wurden für einige dieser inzwischen über 300 Verbindungen anthelminthische, antibakterielle, antihepatotoxische, antiinflammatorische, antimikrobielle, antiödematöse, antivirale, cytotoxische, fungizide, ichthyotoxische, kontaktallergene und Antimalaria-Wirkungen nachgewiesen [1, 2].

Bedeutendster Vertreter dieser Naturstoffgruppe ist das Sesquiterpen-Peroxid Artemisinin (= Qinghaosu), welches 1972 aus *Artemisia annua*, einer in China weit verbreiteten Asteraceae, isoliert worden ist. In der chinesischen Volksmedizin wird *Artemisia annua* seit über 1500 Jahren bei fieberigen Erkrankungen und Malaria verwendet [3, 4].

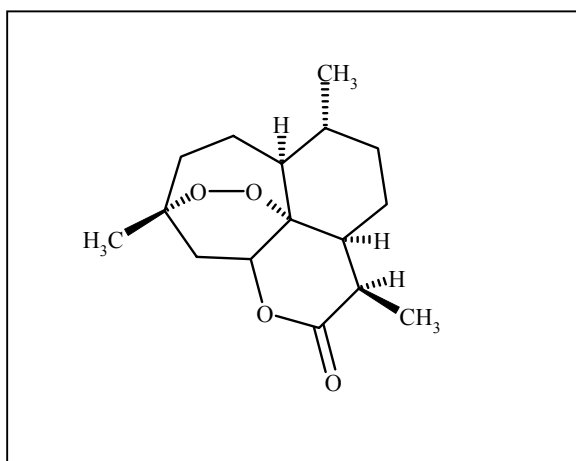


Abb. 1: Artemisinin

Malaria zählt neben AIDS und Tuberkulose zu den drei bedrohlichsten Seuchen weltweit. Jährlich erkranken 300-500 Millionen Menschen in den Tropen durch den Stich der Anopheles Mücke. Aufgrund zunehmender weltweiter Resistenzen gegen die klassischen Malariamittel, die sich vom Chinin ableiten (Chloroquin) besteht ein massiver Bedarf an neuen Antimalaria-Wirkstoffen [5].

[1] D.A.Casteel, *Nat.Prod.Rep.* **1992**, 9, 289-312

[2] D.A.Casteel, *Nat.Prod.Rep.* **1999**, 16, 55-73

[3] "Fourth Meeting of the Scientific Working Group on the Chemotherapy of Malaria", Beijing, People's Republic of China, WHO Report TDR/Chemical-SWG (4)/ QHS/ 81.3, S. 5

[4] J.O'Neill, D.H. Bray, P. Boardman, J.D. Phillipson, D.C. Warhurst, *Planta Med.* **1985**, S. 394-397

[5] *Bayer research* **2002**, 14, 74-79

Artemisinin, ein Sesquiterpenlacton mit 1,2,4-Trioxanstruktur, wird gegen Stämme von *Plasmodium falciparum* eingesetzt und ist vor allem bei der Behandlung der cerebralen Form der *Malaria tropica* wirksam. Die Antimalaria-Wirkung ist dabei an die intakte Peroxidbrücke im Molekül gebunden, die sich durch eine Fe(II)-katalysierte intramolekulare Umwandlung in ein Carbon Radikal als Zwischenstufe umlagert, welches ein Protein acyliert, das nur im Parasiten, nicht jedoch im Wirt vorkommt [6] und so wahrscheinlich die Proteinsynthese der Plasmodien hemmt [4].

Mit der Erkenntnis, dass eine Peroxidstruktur essentiell für die Antimalaria-Wirksamkeit ist, wurden Verbindungen gesucht, die eine Peroxidgruppe beinhalten.

Inzwischen sind mehrere partialsynthetische Derivate dargestellt und untersucht worden, die teilweise eine höhere Antimalaria-Aktivität als Artemisinin selbst zeigen [7, 8], wie z.B. 10-Deoxoartemisinin [9]. Ein halbsynthetisches Derivat, die Substanz Artemisone® (Firma Bayer), verspricht eine zwanzig bis dreißig Mal höhere Wirksamkeit und weist bisher auch eine geringere Toxizität auf. Anfang 2003 sind die ersten klinischen Versuche geplant, Markteinführung ist für 2006 vorgesehen [5].

Weitere Pflanzen, die in der chinesischen Volksmedizin erfolgreich gegen Malaria eingesetzt werden und aus denen die Peroxide Yinghaosu-A und -C als Wirkstoffe isoliert werden konnten, sind *Artabotrys hexapetalus* und *Artabotrys uncinatus* aus der Familie der Anonaceae [3]. Andere natürliche Peroxide zeigen in vitro ebenfalls eine schizontozide Aktivität [10], die allerdings geringer als die des Artemisinins ist.

[6] D.J. Newman, G.M. Cragg, K.M. Snader, *Nat.Prod.Rep.* **2000**, 17, 215-234

[7] M.A. Avery, P. Fan, J.M. Karla, J.D. Bonk, R. Miller, D.K. Goins, *J.Med.Chem.* **1996**, 39, 1885-1897

[8] M.A. Avery, S. Mehrotra, J.D. Bonk, J.A. Vroman, D.K. Goins, R. Miller, *J.Med.Chem.* **1996**, 39, 2900-2906

[9] M.A. Avery, S. Mehrotra, T.L. Johnson, J.D. Bonk, J.A. Vroman, R. Miller, *J.Med.Chem.* **1996**, 39, 4149-4155

[10] G. Rücker, R.D. Walter, D. Manns, R. Mayer, *Planta Med.* **1991**, 57, 295

Neben pflanzlichen Inhaltsstoffen (Kap. 2.4, S.12), insbesondere solchen aus der Familie der Asteraceen, zeigen sowohl Substanzen tierischen Ursprungs, wie z.B. Sigmosceptrellin B [11], welches aus dem roten Seeschwamm *Diacarnus erythraeanus* isoliert wurde, als auch rein synthetisch dargestellte cyclische Peroxyketale [12], Antimalaria-Wirksamkeit.

Ebenfalls zur Familie der Asteraceae (Compositae) gehört das in Nordamerika beheimatete Grindeliakraut, das hauptsächlich bei Erkrankungen des Respirationstraktes als Expektorans verwendet wird. Darüber hinaus wird es auch zur Heilung chronischer Malaria empfohlen [13].

In Voruntersuchungen wurden Blüten und Blätter von *Grindelia robusta* dünnschichtchromatographisch auf das Vorkommen von Peroxiden untersucht. Dabei ergaben sich Hinweise auf einen hohen Gehalt an Peroxiden in den Blüten, sowie auf einen geringeren Gehalt in den Blättern. Dies veranlasste uns Grindeliakraut auf Peroxide, als mögliche Wirkstoffe, zu untersuchen. Bisher wurden für diese Pflanze keine peroxidischen Inhaltsstoffe in der Literatur beschrieben.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Isolierung und Strukturaufklärung von Peroxiden aus *Grindelia robusta*.

[11] K.A.El Sayed, M.T. Hamann, N.E. Hashish, W.T. Shier, M. Kelly, A.A. Khan, *J.Nat.Prod.* **2001**, 64, 4, 522-524

[12] G.H.Posner, H. O'Dowd, P. Ploypradith, J.N. Cumming, S. Xie, T.A. Shapiro, *J.Med.Chem.* **1998**, 41, 2164-216

[13] W.Boericke, *Homöopathische Mittel und ihre Wirkungen* **2000**, 6. Auflage, 233 www.homeoint.org/books/boericmm/g/grin.htm

2 Allgemeiner Teil

2.1 Botanische Beschreibung von *Grindelia robusta* N.

Die Gattung *Grindelia* ist reich vertreten und umfasst 57 Arten, welche im westlichen Nordamerika beheimatet sind [14,15,16]. Ihr Vorkommen erstreckt sich vom südwestlichen Kanada bis Mexiko. Einige Arten finden sich auch in Südamerika [16]. In Europa wachsen nur wenige Arten, wie z.B. *Grindelia squarrosa* in Deutschland, Österreich und Norditalien, wo sie auf kleinen Flächen kultiviert werden [15,17,18].

Die aufrechten, zweijährigen bis ausdauernden Kräuter bevorzugen viel Sonne und trockene Böden; selbst auf nährstoffarmem und salzigem Untergrund können sie wachsen. Sie überstehen auch Dürrezeiten ohne Folgeschäden. Ihre Oberfläche ist stark harzig und dadurch klebrig, weshalb sie in den USA auch "gum plant" genannt werden. Sie gehören zu der am meisten Harz produzierenden Gattung (> 10 % des Trockengewichts) [14,17,18,19]. Die Harzproduktion in der Gattung *Grindelia* wird als phytochemische Anpassung an die aride Lebensweise der Gattung gewertet [19]. Außerdem wurde die futtervergärende Wirkung auf Blattläuse und Schmetterlingsraupen nachgewiesen (an *G. humilis* detailliert untersucht), weswegen die Harzproduktion auch als Abwehrmechanismus diskutiert wird [20]. Das Harz der Gattung *Grindelia* hat durchaus wirtschaftliche Bedeutung und wird im Zusammenhang mit einem Ersatz für Erdöl (nachwachsende Rohstoffe) diskutiert [14]. Es wird daran gearbeitet verschiedene Arten der Gattung *Grindelia* als Nutzpflanzen der ariden und semiariden Gebiete in größerem Maßstab anzubauen [15].

Grindelia robusta, in der deutschen Sprache auch als Grindeliakraut oder Grindelie bezeichnet, besitzt grüne, kräftige, schwach geriefte, fast kahle oder mit kleinen Harzdrüsen besetzte, stielrunde 40 bis 120 cm hohe Stengel, welche im oberen Teil mit in der Regel einfachen, blütentragenden Seitenzweigen versehen sind. Die wechselständigen, stengelumfassenden Blätter werden 2,5 bis 9,0 cm lang und 3,0 bis 7,0 cm breit und sind durchscheinend punktiert.

[14] B.N. Timmermann, S.P. McLaughlin, J.J. Hoffmann, *Biochem. Syst. Ecol.* **1987**, Vol.15, No.4, 401-410

[15] Hagers Handbuch d. Pharmazeut. Praxis, Folgeband 2, Springer Verlag Berlin Heidelberg **1998**

[16] B. Hohmann, **1967**, 3, 255-263

[17] J. Cullen, *The European Garden Flora*, Vol. VI, 565-566, University Press Cambridge

[18] G. Hegi, *Illustrierte Flora von Mitteleuropa* **1979**, Bd. IV, Teil 3, 13-16, Verlag Paul Parey, Berlin Hamburg, **1979**

[19] J.J. Hoffmann, B.E. Kingsolver, S.P. McLaughlin, B.N. Timmermann, *Recent Adv. Phytochemistry* **1984**, 251-271

[20] A.F. Rose, K.C. Jones, W.F. Haddon, D.L. Dreyer, *Phytochemistry* **1981**, 20, 2249-2253

Sie sind im unteren und mittleren Teil des Stengels eiförmig bis länglich; der Blattrand weist dort große, spitze bis feindornige Zähne auf, die vorspringend gezähnt oder gesägt sind. Im oberen Teil des Stengels sind die Laubblätter eiförmig bis lanzettlich und spitz, mehr oder weniger ganzrandig. Die einzelnen, endständigen Blütenköpfe sind halbkugelig, am Grund etwas eingewölbt und werden 1,0 bis 2,5 cm breit. Ihre Blütezeit dauert von Mai bis September, durch Pollen suchende Insekten kommt es zur Fremdbestäubung. Der mit klebrigem, frisch milchweißem, später braunem Sekret bedeckte Hüllkelch besteht aus vier bis sechs Reihen dachziegelartig angeordneter hellbräunlich grüner Hüllkelchblätter, welche in die unter dem Hüllkelch stehenden Hüllkelchblätter übergehen. Der Blütenstandsboden ist flach gewölbt und wabenförmig ausgebildet. Die Blüte ist mit 30 bis 50 gelben, weiblichen Zungenblüten versehen, die nach außen umgeschlagen, teils abgebrochen, häufig längs eingerollt und über die Scheibenblüten gebogen sind. Die dicht gedrängt stehenden und häufig miteinander verklebten zwittrigen Röhrenblüten sind schmutziggelb, zwischen ihnen sind die feinen Grannen des Pappus zu erkennen [15,17,18,21,22].



Photo 1: Blüten von *Grindelia robusta*

[21] Homöopathisches Arzneibuch 2003, Dt. Apotheker Verlag Stuttgart, **2002**

[22] Hagers Handbuch d. Pharmazeut. Praxis **1973**, IV Band, Springer Verlag Berlin Heidelberg

2.2 Taxonomie

Klasse	Dicotyledoneae
Unterklasse	Asteridae
Überordnung	Asteranae
Ordnung	Asterales
Familie	Asteraceae (Compositae, Korbblütler)
Tribus	Astereae
Subtribus	Solidagininae
Gattung	Grindelia
Art	Robusta

2.3 Medizinische Verwendung von *Grindelia robusta*

Eine Heilwirkung kalifornischer Grindelien war bereits im 18. Jahrhundert den Missionaren in Amerika bekannt. Später wurden *Grindelia*-Arten als offizinelle Pflanzen in verschiedene Arzneibücher aufgenommen [16]. Im Homöopathischen Arzneibuch (HAB) [21] wie auch in der Roten Liste ist *Grindelia robusta* aufgeführt. So ist das Grindeliakraut in acht Präparaten (Asthma-Bomin H, Asthma H M Inj., Asthmakhell[®] N, Bronchi-Do[®], BRONCHI-PERTU[®] spag. Saft, Drosence-Weliplex, Pulmorell Lungen-Spezifikum, Santa Flora[®] S) als Hauptbestandteil enthalten [23]. In "Pulmorell Lungen-Spezifikum" ist eine Lösung von *Grindelia robusta* sogar alleiniger Wirkstoff. Die Anwendung der Fertigarzneimittel, in denen *Grindelia robusta* meist als Tinktur vorkommt, dient zur Behandlung der Atemwege bei bronchitischem Syndrom und Asthma bronchiale; Asthma cardiale, Bronchospasmen bei Silikose, Katarrhen der Luftwege, asthmatischen Erkrankungen, Spasmen der glatten Muskulatur, Krampfhusten, Entzündungen und Verschleimung der Bronchien, Entzündungen der Atemwege, Hustendämpfung und Schleimförderung bei Asthma, Bronchitis und Keuchhusten, Adjuvans bei Bronchialasthma und zur Therapie der spastischen Bronchitis [23].

[23] Rote Liste, ECV Aulendorf, 2003

In weiteren Literaturstellen [18,26,27] werden verschiedene Anwendungen, in der Mehrzahl jedoch solche, die die oberen Atemwege betreffen, genannt. So wirken Zubereitungen von *Grindelia robusta* als schleimlösendes Mittel bei Beschwerden der Luftwege, aber auch bei Blasenschwäche, Rheumatismus und homöopathisch bei Milzleiden.

Ihre Wirkung bei Asthma soll unter anderem darauf beruhen, dass die Empfindlichkeit der Schleimhäute gegen Allergene herabgesetzt wird [18]. Aktuelle Untersuchungen belegen eine relativ starke Hemmung der leukozytären Elastase, einem Entzündungsmediator, der besonders bei Asthma, Bronchitis und dem Lungenemphysem eine dominante Rolle spielt. Weiterhin besitzen Extrakte aus der Droge eine antimikrobielle Wirkung gegen Problemkeime, die gerade bei Infektionen der oberen Luftwege mit nachfolgenden Entzündungen auftreten [28].

In der Volksmedizin wird *Grindelia robusta* bei Asthma, Bronchitis und Pertussis eingesetzt, da antitussive, expektorierende, sedative und spasmolytische Eigenschaften beschrieben werden [25,26,27]. Auch als homöopathisches Mittel bei Magenschmerzen wird sie empfohlen [24,25]. Zusammenfassend lässt sich sagen, daß die am häufigsten beschriebene Wirkung von *Grindelia robusta* im Respirationstrakt liegt, wo sie als Expektorans, Bronchospasmolytikum und Antiasthmatikum angewandt wird. Äußerlich findet sie Anwendung bei Irritationen der Haut durch Giftefeu [25].

[24] M.N. Newton, L.A. Espinar, N.R. Grosso, M.P. Zumino, D.M. Maestri, J.A. Zygadlo, *Planta Med.* **1998**, 64, 470-473

[25] B. Timmermann, E. Wollenweber, M. Dörr, S. Armbruster, K.M. Valant-Vetschera, E.R. Fuentes, *Zeitschrift f. Naturforschung* **1994**, Bioscience C, 49 (5-6), 395-397

[26] S. Kreutzer, O. Schimmer, R. Waibel, *Planta Med.* **1990**, 56, 392-394

[27] G.Kaltenbach, O.Schimmer, *Planta Med.* **1991**, Suppl. Issue 2, 57, A 82

[28] B.Gehrmann, M.F.Melzig, *Deutsche Apotheker Zeitung* **2002**, 46, 69-75

2.4 Bisher isolierte Inhaltsstoffe aus *Grindelia robusta*

Am häufigsten wurden die Harzfraktionen der *Grindelia*-Arten, welche aus Diterpensäuren vom Labdan-Typ bestehen, untersucht. L. Panizzi et al. untersuchten die Harzfraktion von *Grindelia robusta* und isolierten dabei eine Substanz, die sie **Grindeliasäure** nannten. Hierbei handelte es sich um den Hauptinhaltsstoff, dessen Struktur sie in ihrer Untersuchung aufgeklärt haben (Abb. 2) [29]:

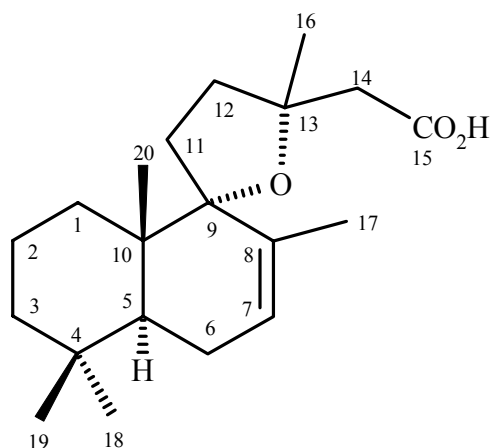


Abb. 2: Grindeliasäure

Sowohl Derivate der Grindeliasäure [14] (Abb. 3) wie auch Substanzen anderer Verbindungsklassen wurden seitdem aus *Grindelia robusta* isoliert:

6-Oxograndeliasäure (a)

6-Hydroxygrandeliasäure (b)

7 α ,8 α -Epoxygrandeliasäure (c)

17-Hydroxygrandeliasäure (d)

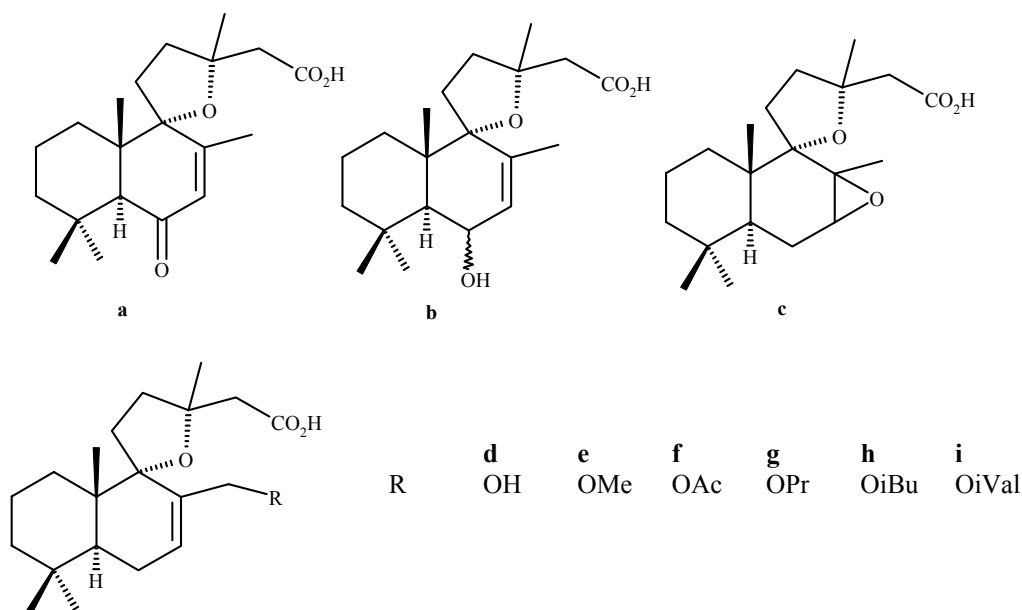
fünf 17-substituierte Homologe (Methoxy, Acetoxy, Propionoxy, Isobutyroxy und Isovaleroxy, e-i)

7-Hydroxy-8(17)-dehydroygrandeliasäure (k)

6,8(17)-Diengrandeliasäure (l)

13-Isograndeliasäure (m)

Striktanononsäure (n)



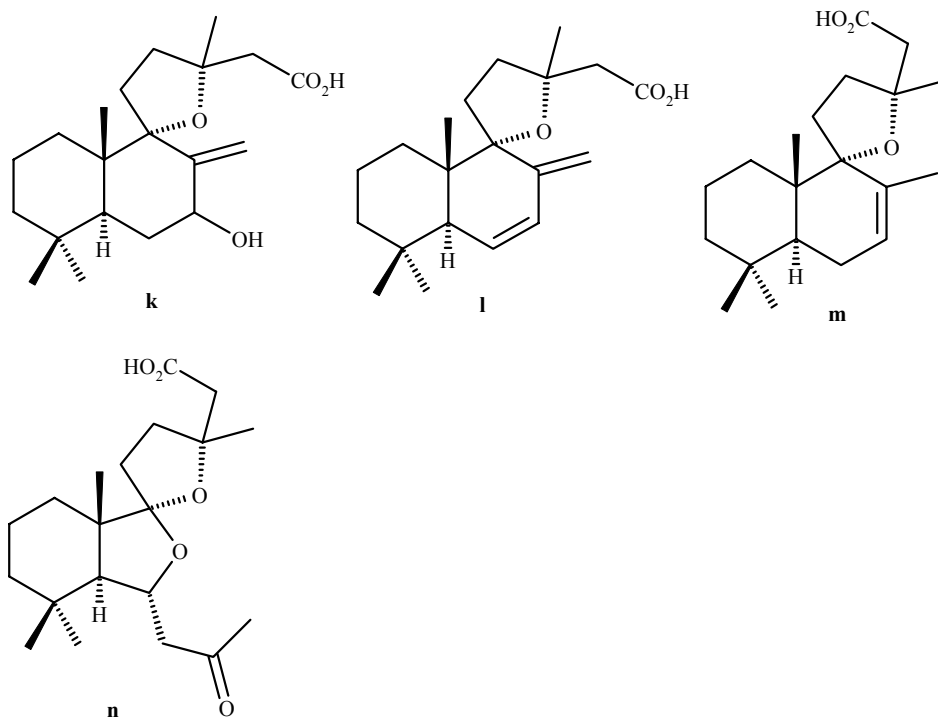


Abb. 3: Derivate der Grindeliasäure

In seiner Dissertationsarbeit (1963) fasst Peter Busch folgende Inhaltsstoffe aus *Grindelia robusta* zusammen [30]:

Harz, ätherisches Öl, Hentriakontan, Alkohol (nicht näher charakterisiert), Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Palmitinsäure, Procatechusäure, p-Oxy-Benzoesäure, Phenol, Gerbstoff (Tannin), Glukose und Phytosterol.

Zusätzlich wurden von ihm sowohl aus dem Blütenharz als auch aus den Wurzeln zwei **Acetylenverbindungen** isoliert:

Matricarianol

Matricarianolacetat

Auf **phenolische Inhaltsstoffe** haben 1978 M. Pinkas et al. einige *Grindelia* Arten untersucht und dabei in *Grindelia robusta* die folgenden drei phenolischen Säuren nachgewiesen [31]:

p-Hydroxybenzoesäure

Vanillinsäure

p-Cumarsäure

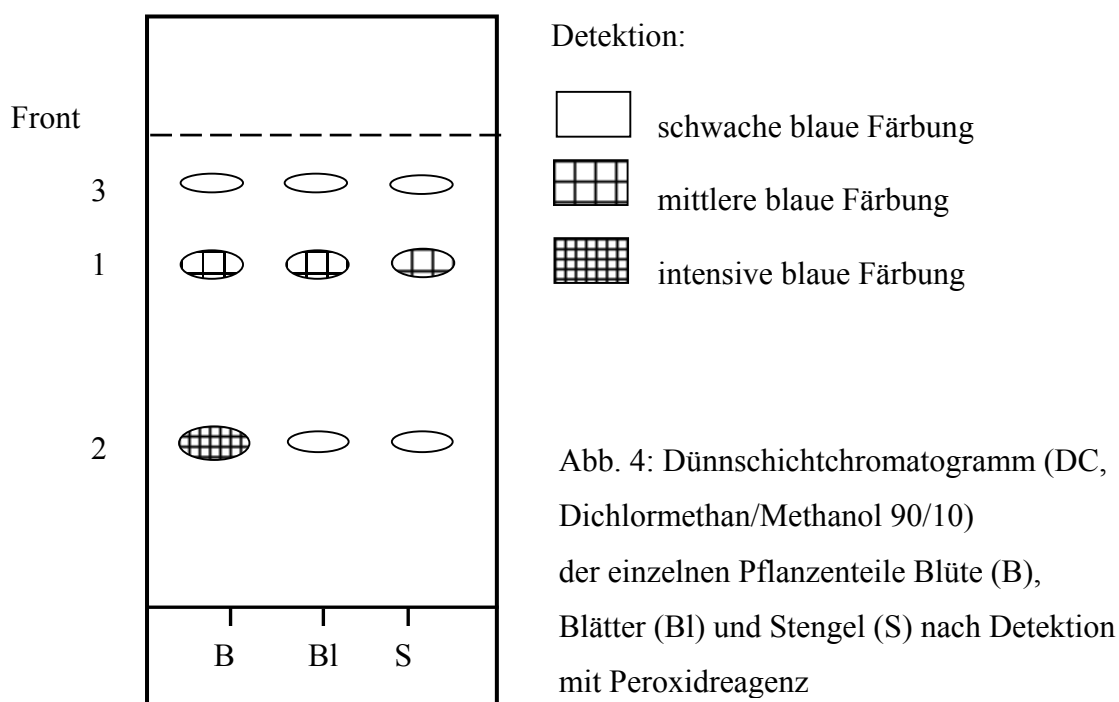
[30] P. Busch: Über das Vorkommen von Polyacetylen-Verbindungen in *Grindelia robusta* und *Valeriana officinalis*, *Dissertation*, Universität Münster, **1963**

[31] M. Pinkas, N. Didry, M. Torck, L. Bézanger, J.-C. Cazin, *Ann.pharm.franc.* **1978**, 36, n°3-4, 97-104

2.5 Untersuchung von *Grindelia robusta*

2.5.1 Pflanzenmaterial und Extraktion

Die oberirdischen Teile von *Grindelia robusta* wurden zur Blütezeit sowohl im Botanischen Garten (Rohmaterial I), als auch nach der Anzucht von Samenmaterial im Garten der Pharmazeutischen-Chemie und dem Versuchsgarten der Pharmazeutischen-Biologie (Rohmaterial II) der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn geerntet. Eine Voruntersuchung ergab, dass vorwiegend in den Blüten Peroxide detektierbar waren, jedoch auch Blätter und Stengel das Vorkommen von Peroxiden zeigten. Deshalb wurden die frischen oberirdischen Teile getrennt in Blüten (0,65 kg, Rohmaterial II) und oberirdische Teile (Blüten, Blätter und Stengel, 6,31 kg, Rohmaterial I) einer Wirbelstrommazeration in Dichlormethan unterzogen. Das Lösungsmittel wurde nach einer Woche im Vakuum bei Raumtemperatur entfernt. Auf diese Weise lieferte Rohmaterial I den Rohextrakt I (48,70 g) und Rohmaterial II den Rohextrakt II (15,12 g).



Ein Dünnschichtchromatogramm der einzelnen Pflanzenteile (Blüte, Blätter, Stengel) zeigte nach Detektion mit dem Peroxidreagenz [32] die drei Substanzflecken 1, 2 und 3.

Die beiden Flecken 1 (Verbindung 1) und 2 (Verbindung 2) reagierten innerhalb von 1-5 min. unter Blaufärbung (vgl. Abb. 4). Verbindung 2 färbte sich intensiv blau im DC des Blütenextraktes, jedoch nur schwach im DC der Blatt- und Stengelextrakte. Verbindung 1 zeigte eine Blaufärbung mittlerer Intensität in allen drei Extrakten. Ein weiterer Fleck (3) mit nur schwacher Blaufärbung ist knapp unterhalb der Laufmittelfront sichtbar.

2.5.2 Aufarbeitung von Rohextrakt I

Der grüne, sirupöse Dichlormethan-Rohextrakt I der oberirdischen Teile (48,70 g) wurde zunächst in Methanol aufgenommen, wobei ein weißer Niederschlag ausfiel. Dieser zeigte nach dc-Analyse keine Reaktion mit dem Peroxidsprühreagenz und wurde verworfen. Anschließend wurde der grüne, Methanol lösliche Anteil säulenchromatographisch aufgetrennt. Nach zweimaliger sc Trennung wurde Verbindung 1 (vgl. Abb. 5) als viskoses Öl erhalten.

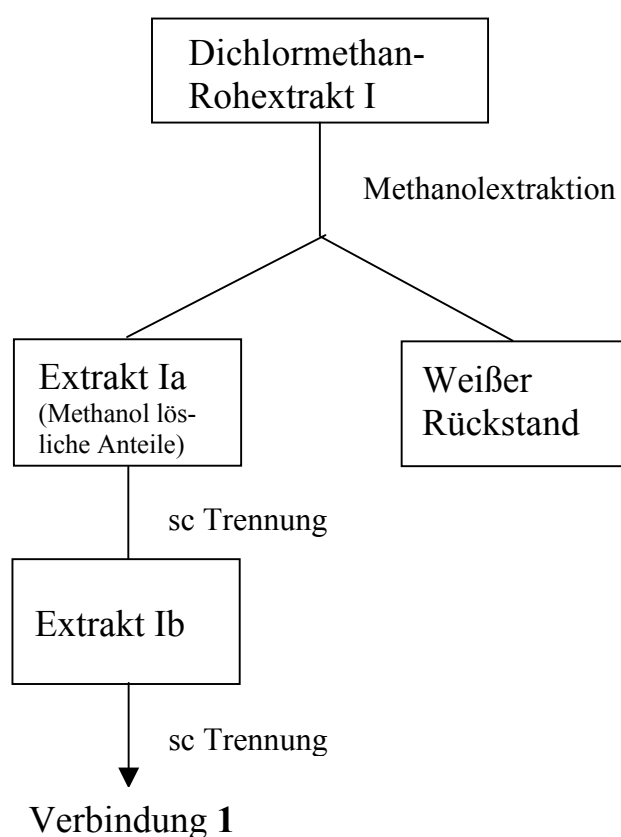


Abb. 5: Aufarbeitung von 48,70 g Rohextrakt I

2.5.3 Aufarbeitung von Rohextrakt II

Der gelbe, stark viskose Rohextrakt II der Blüten (15,12 g) lieferte nach sc-Trennung zwei Fraktionen (1 und 5) aus denen durch weitere säulenchromatographische Auftrennung die Verbindungen **2** und **3** isoliert werden konnten (vgl. Abb. 6).

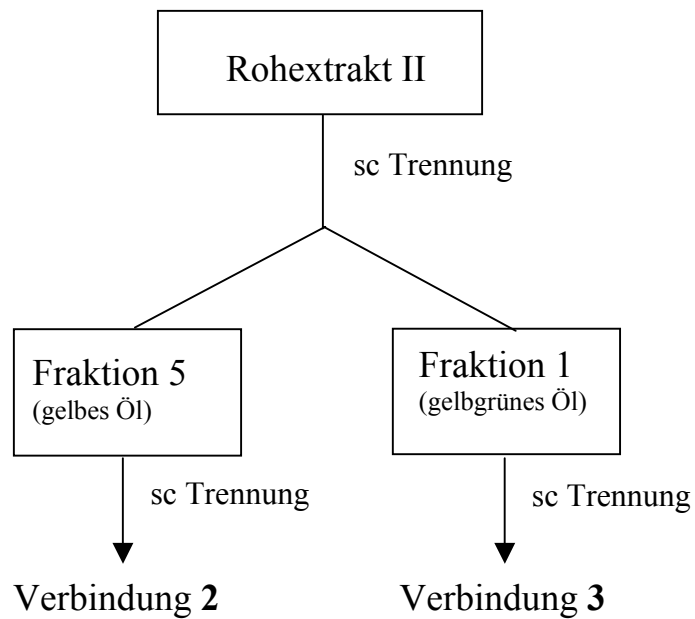
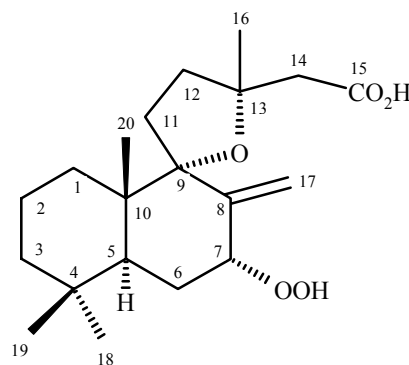


Abb. 6: Aufarbeitung von 15,12 g Rohextrakt II

2.6 Verbindung 1 (7 α -Peroxy-7,8-dihydro-8(17)-engrindelasäure)



Die Verbindung **1** fiel nach Aufarbeitung des Rohextraktes I (Abb. 5, S. 16) als viskoses Öl (11,5 mg) mit einem Drehwert von $[\alpha]_D^{22} = +32,8^\circ$ an.

2.6.1 Ableitung der Summenformel

Im **FAB-Massenspektrum** (Abb. 7) liegt das Quasi-Molekölion $[M+H]^+$ bei m/z 353,2. Ein weiterer Peak bei m/z 375,2 kann $[M+Na]^+$ zugeordnet werden, da das Spektrum mit Natriumacetat und der Matrix m-Nitrobenzylalkohol (mNBA) aufgenommen wurde. Daraus ergibt sich eine Gesamtmasse von 352,2 g/mol für die gefundene Verbindung. Zusammen mit den anderen spektroskopischen Daten (1H -NMR, ^{13}C -NMR, 90° und 135° DEPT) lässt sich die Summenformel $C_{20}H_{32}O_5$ (berechnet 352,22 g/mol) ableiten, die fünf Doppelbindungsäquivalente erwarten lässt.

In Übereinstimmung mit der positiven Reaktion auf das Peroxidsprühreagenz lässt das Fragmentation bei m/z 319,2 $[M-OOH]^+$ auf die Abspaltung einer Hydroperoxidgruppierung schließen.

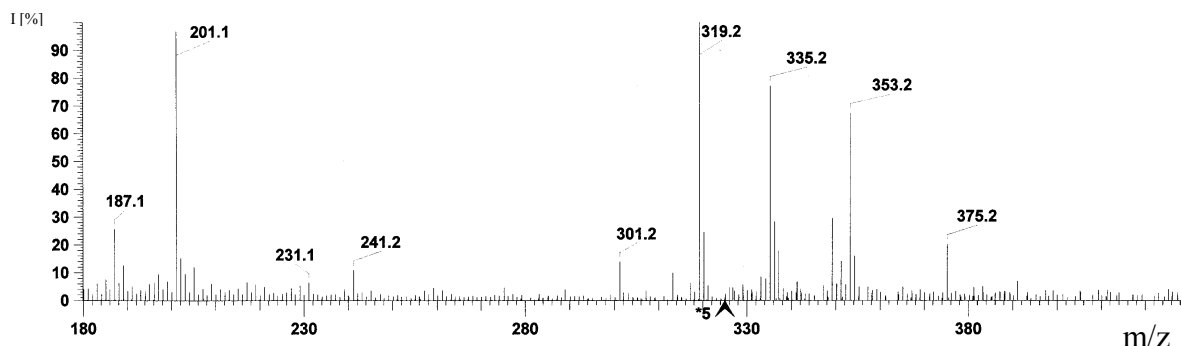


Abb. 7: FAB-Massenspektrum der Verbindung **1** (Matrix: mNBA/Natriumacetat)

2.6.2 Ableitung der Konstitution

Das **IR-Spektrum** der Verbindung **1** (Abb. 8), aufgenommen in Lösung (CHCl_3), zeigt im Bereich der Valenzschwingungen ($>1600\text{cm}^{-1}$) charakteristische Banden für freie und assoziierte OH- bzw. OOH-Gruppen bei 3520 cm^{-1} (m) und 3280 cm^{-1} (s). Zugehörige OH-Deformationsschwingungen und C-O-Valenzschwingungen findet man bei 1320 und 1000 cm^{-1} . Im Bereich von $3540\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ erkennt man die verbreiterte OH-Valenzschwingung einer Carbonsäuregruppierung, deren C=O Valenzschwingung bei 1735 cm^{-1} liegt. Einen weiteren Anhaltspunkt für eine Hydroperoxidgruppierung liefert die Bande einer O-O-Valenzschwingung bei 875 cm^{-1} (w) [33].

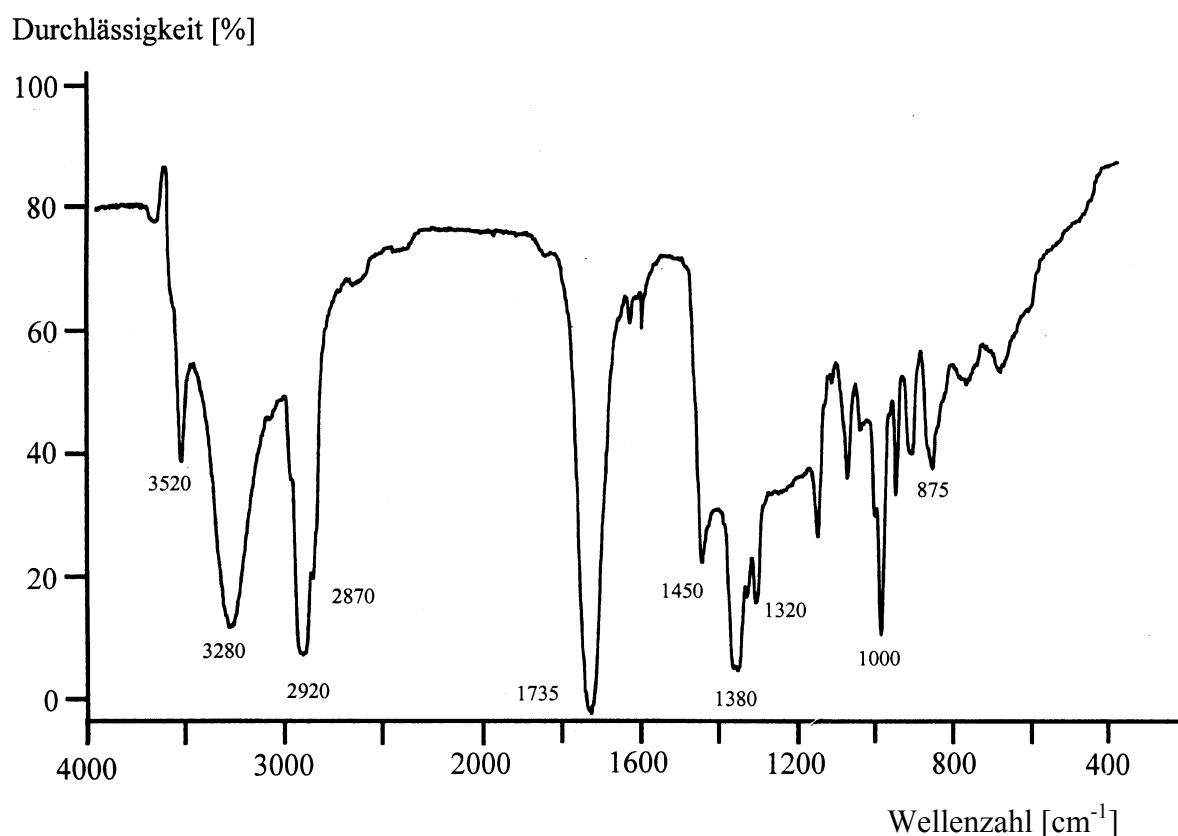


Abb. 8: IR-Spektrum der Verbindung **1** (CHCl_3)

Die Bande bei 2920 cm^{-1} (s) mit einer Schulter bei 2870 cm^{-1} (s) liegt im Bereich der asymmetrischen und symmetrischen Valenzschwingungen gesättigter Kohlenwasserstoffe (Methyl- und Methylengruppen). Die zugehörigen CH_2 -Deformationsschwingungen findet man bei 1450 cm^{-1} (m). Bei 1380 cm^{-1} (s) beobachtet man die charakteristische Doppelbande der symmetrischen Deformationsschwingung einer geminalen Dimethylgruppierung.

2.6.2.1 NMR-Spektren der Verbindung 1

Neben den klassischen spektroskopischen Methoden wie Massen- und IR-Spektroskopie, die zur Charakterisierung der Summenformel und funktioneller Gruppen herangezogen wurden, erfolgte die Ableitung der Konstitution mit ein- und zweidimensionalen NMR-Techniken.

Im folgenden sind die abgebildeten Spektren aufgelistet.

Abb. 9, S. 21: breitbandenkoppeltes ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung **1** (CDCl_3 , 125 MHz);

DEPT 90°-Experiment; DEPT 135°-Experiment

Abb. 10, S. 22: Ausschnitt aus dem breitbandenkoppelten ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 125 MHz, 15-50 ppm)

Abb. 11, S. 23: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz)

Abb. 12, S. 24: Ausschnitte aus dem ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, 1.15-1.65 ppm; 1.75-2.25 ppm)

Abb. 13, S. 25: HH-COSY-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz)

Abb. 14, S. 26: Ausschnitt aus dem HH-COSY-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, 0.7-2.8 ppm)

Abb. 15, S. 27: HMQC-Spektrum (CDCl_3 , 500/ 125 MHz)

Abb. 16, S. 28: Ausschnitt aus dem HMQC-Spektrum (CDCl_3 , 500/ 125 MHz, 0.7-2.8 ppm / 15-50 ppm)

Abb. 17, S. 29: HMBC-Spektrum (CDCl_3 , 500/ 125 MHz)

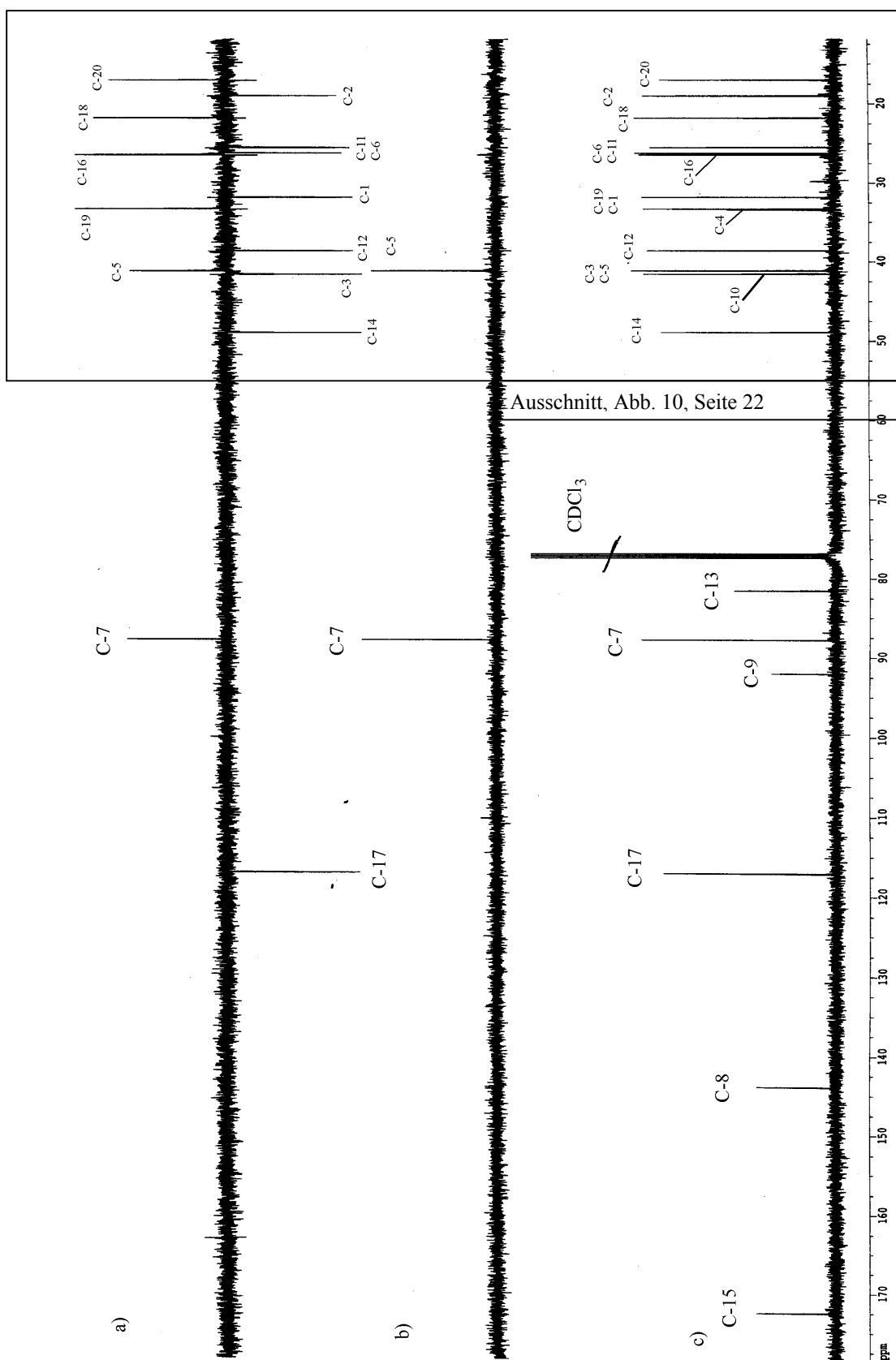
Abb. 18, S. 30: Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum (CDCl_3 , 500/ 125 MHz, 0.2-3.2 ppm / 10-95 ppm)

Abb. 19, S. 31: Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum (CDCl_3 , 500/ 125 MHz, 0.6-2.8 / 15-50 ppm)

Abb. 20, S. 32: HH-ROESY-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz)

Zusammenfassung der NMR-spektroskopischen Daten:

Siehe Kap. 2.6.2.7, S. 56 ff.



Ausschnitt, Abb. 10, Seite 22

Abb. 9: ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung **1** (125 MHz, CDCl_3)

- a) DEPT-Experiment mit $\theta = 135^\circ$, CH und CH_3 mit positiven, CH_2 mit negativen Amplituden
- b) DEPT-Experiment mit $\theta = 90^\circ$, CH Subspektrum
- c) protonenbreitbandenkoppelt

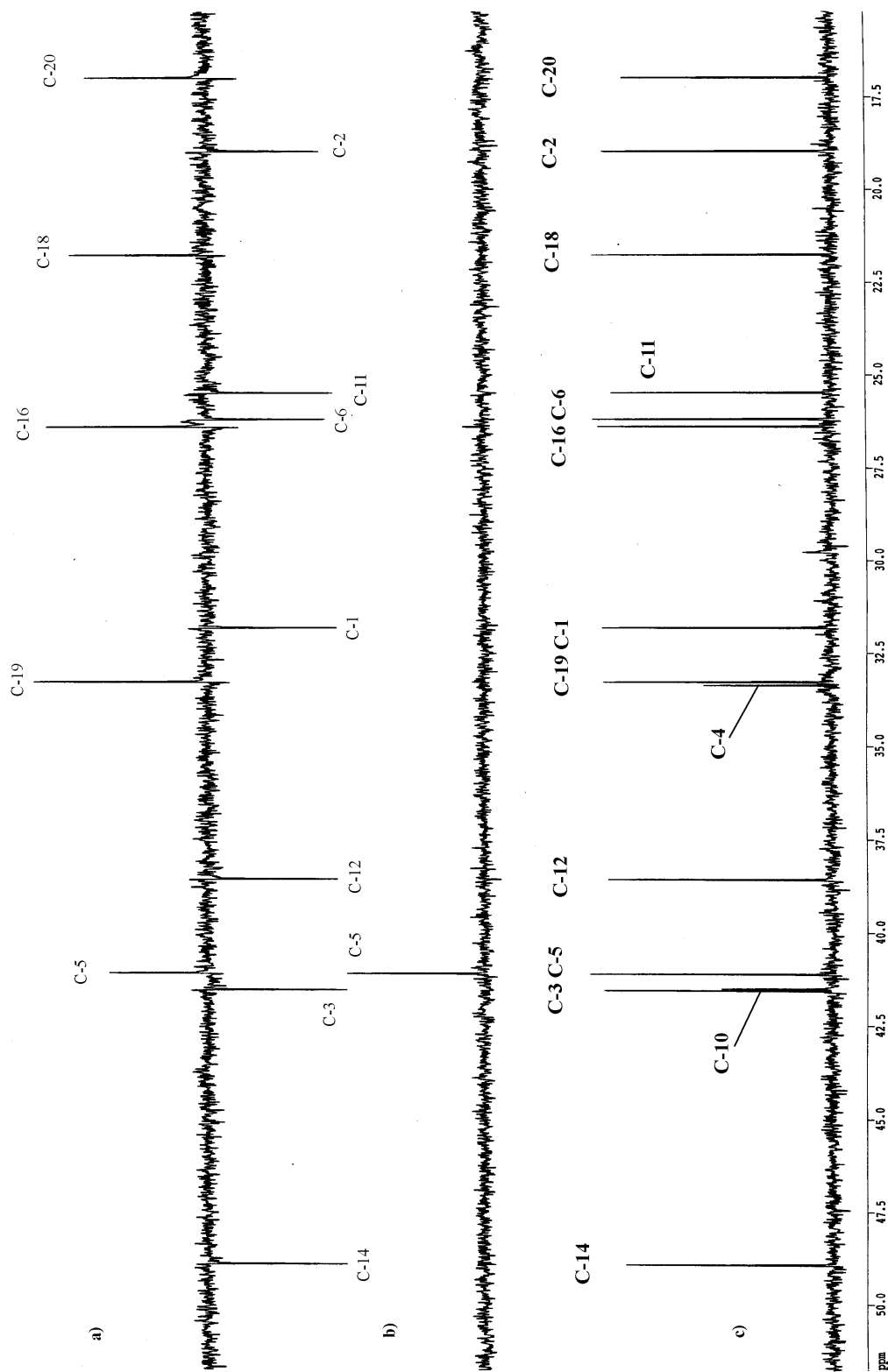


Abb. 10: Ausschnitt aus dem ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung **1** (125 MHz, CDCl_3)

- a) DEPT-Experiment mit $\theta = 135^\circ$, CH und CH_3 mit positiven, CH_2 mit negativen Amplituden
- b) DEPT-Experiment mit $\theta = 90^\circ$, CH Subspektrum
- c) protonenbreitbandentkoppelt

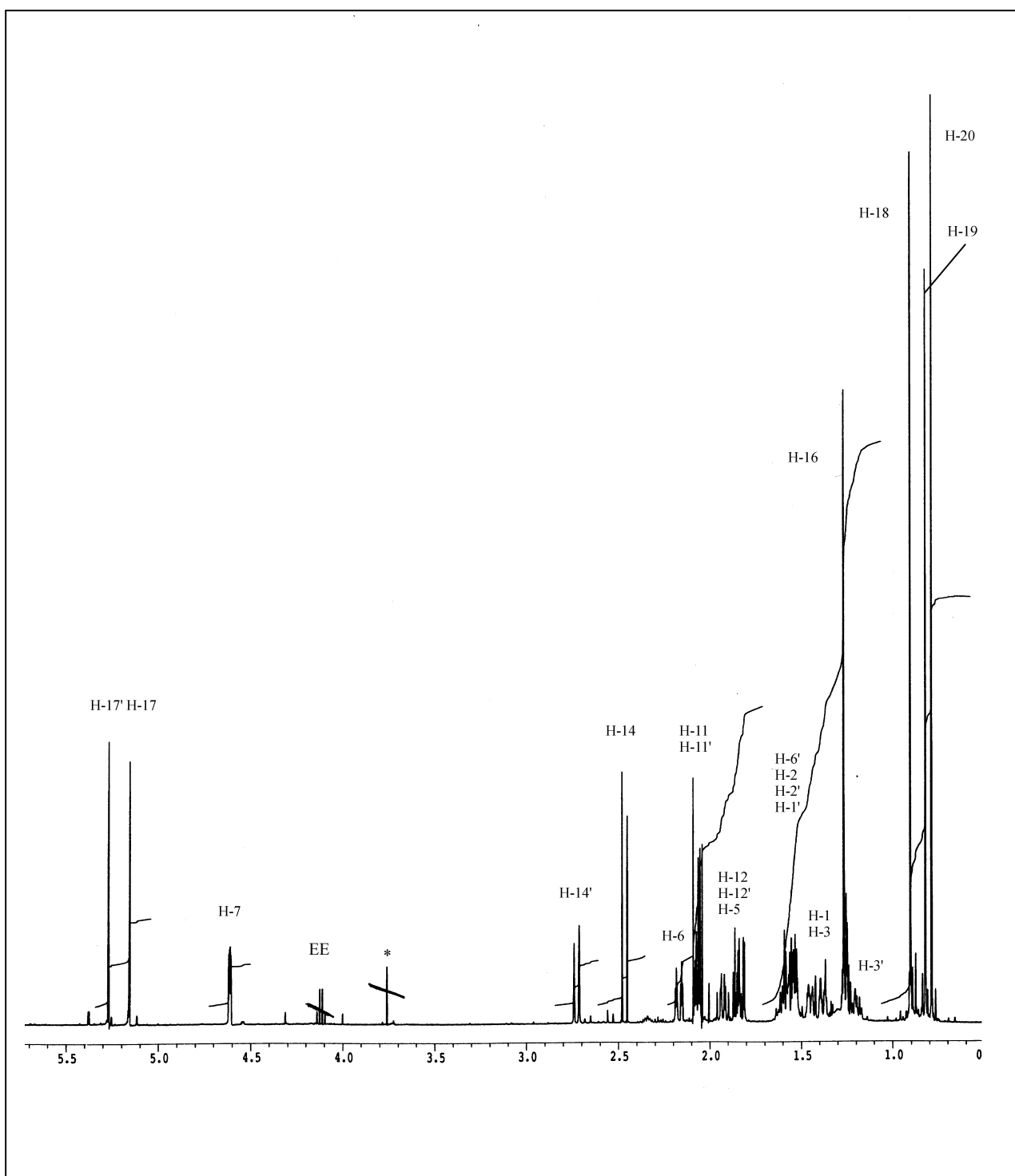


Abb. 11: ^1H -NMR Spektrum der Verbindung **1** (500 MHz, CDCl_3)

* Verunreinigung

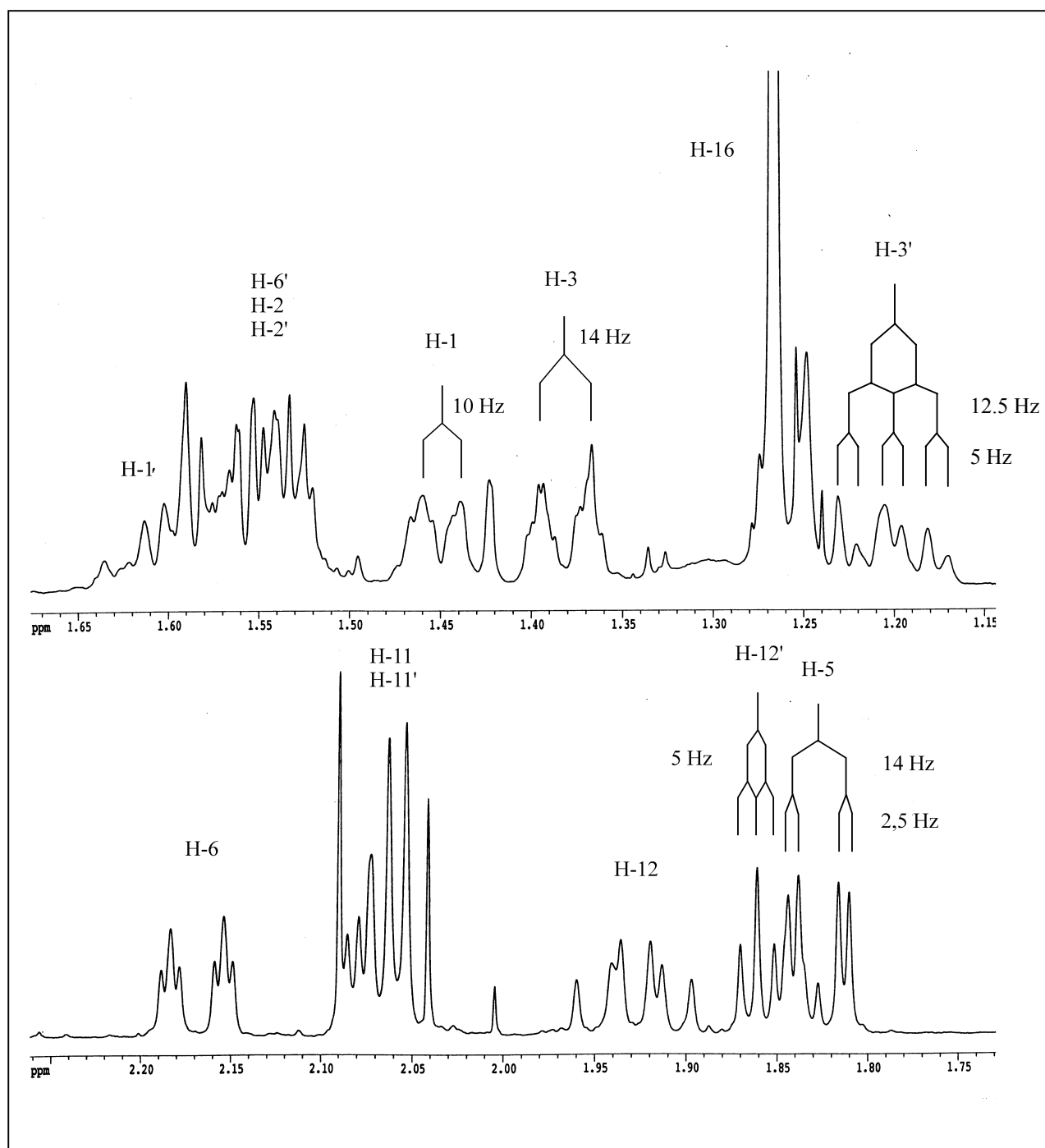
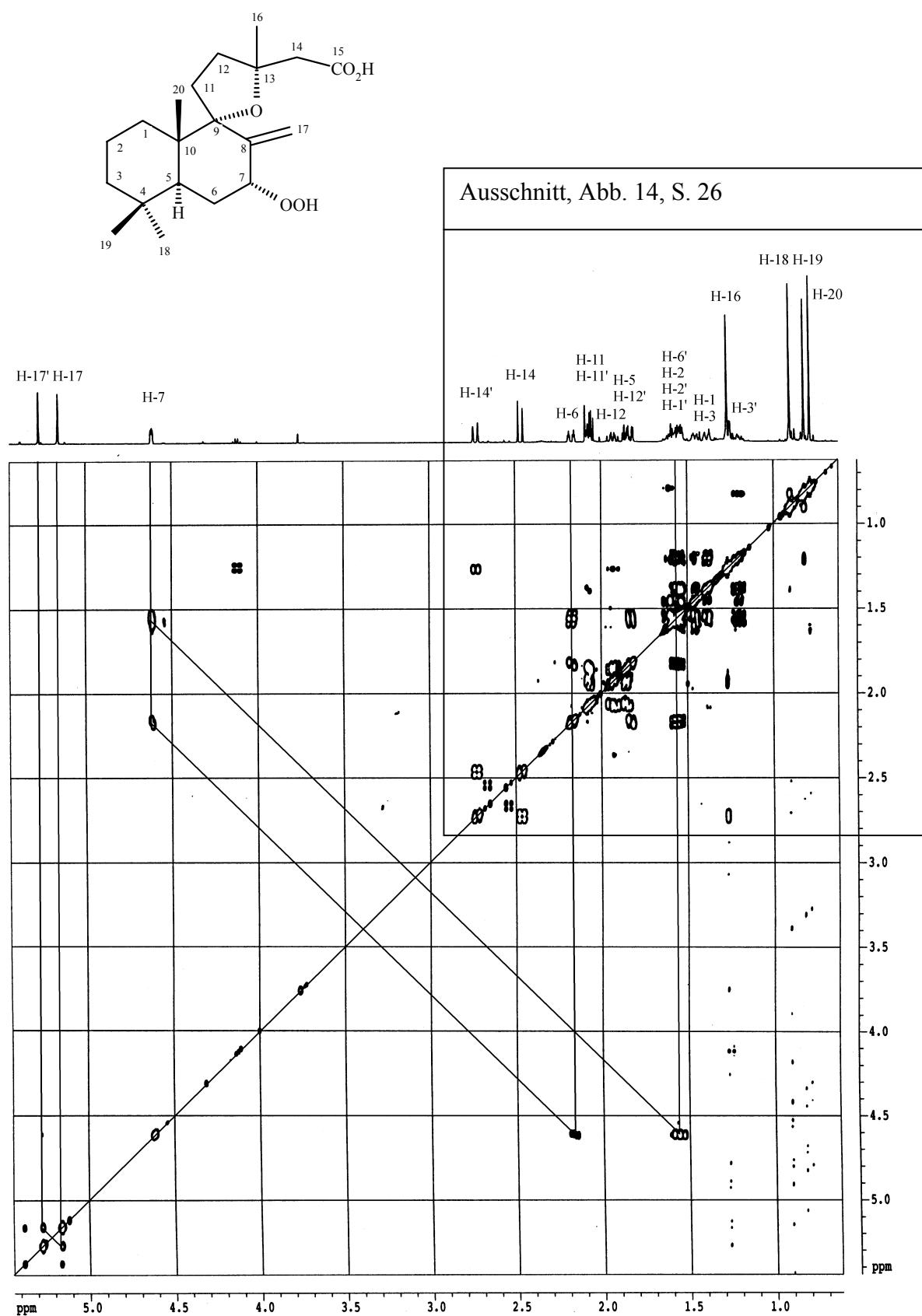


Abb. 12: Ausschnitte aus dem ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung **1** (500 MHz, CDCl_3)

Abb.13: HH-COSY-Spektrum der Verbindung 1 (500 MHz, CDCl₃)

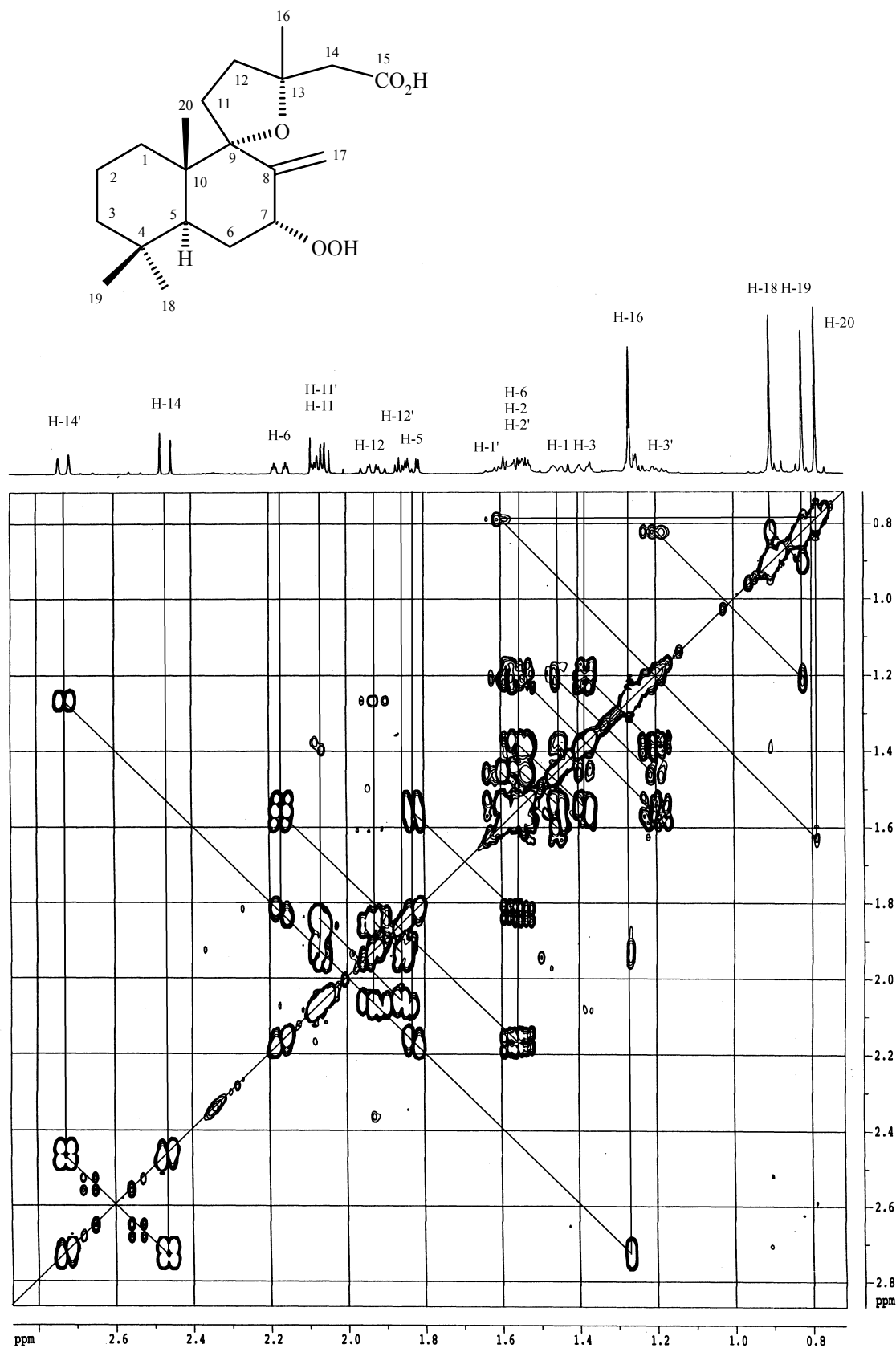
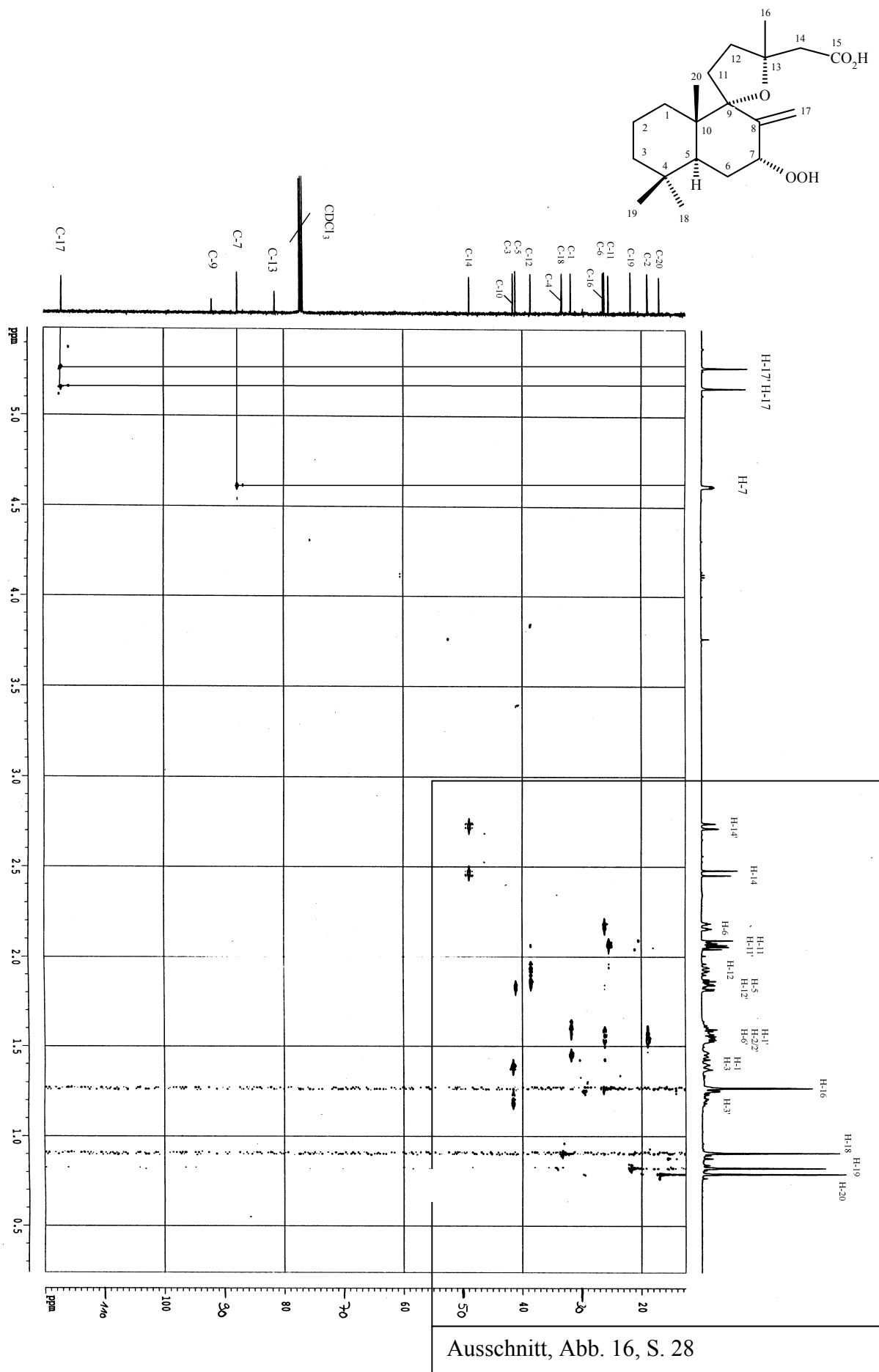


Abb. 14: Ausschnitt aus dem HH-COSY-Spektrum der Verbindung **1** (500 MHz, CDCl₃)

Abb.15: HMQC-Spektrum der Verbindung 1 (500/125 MHz, CDCl₃)

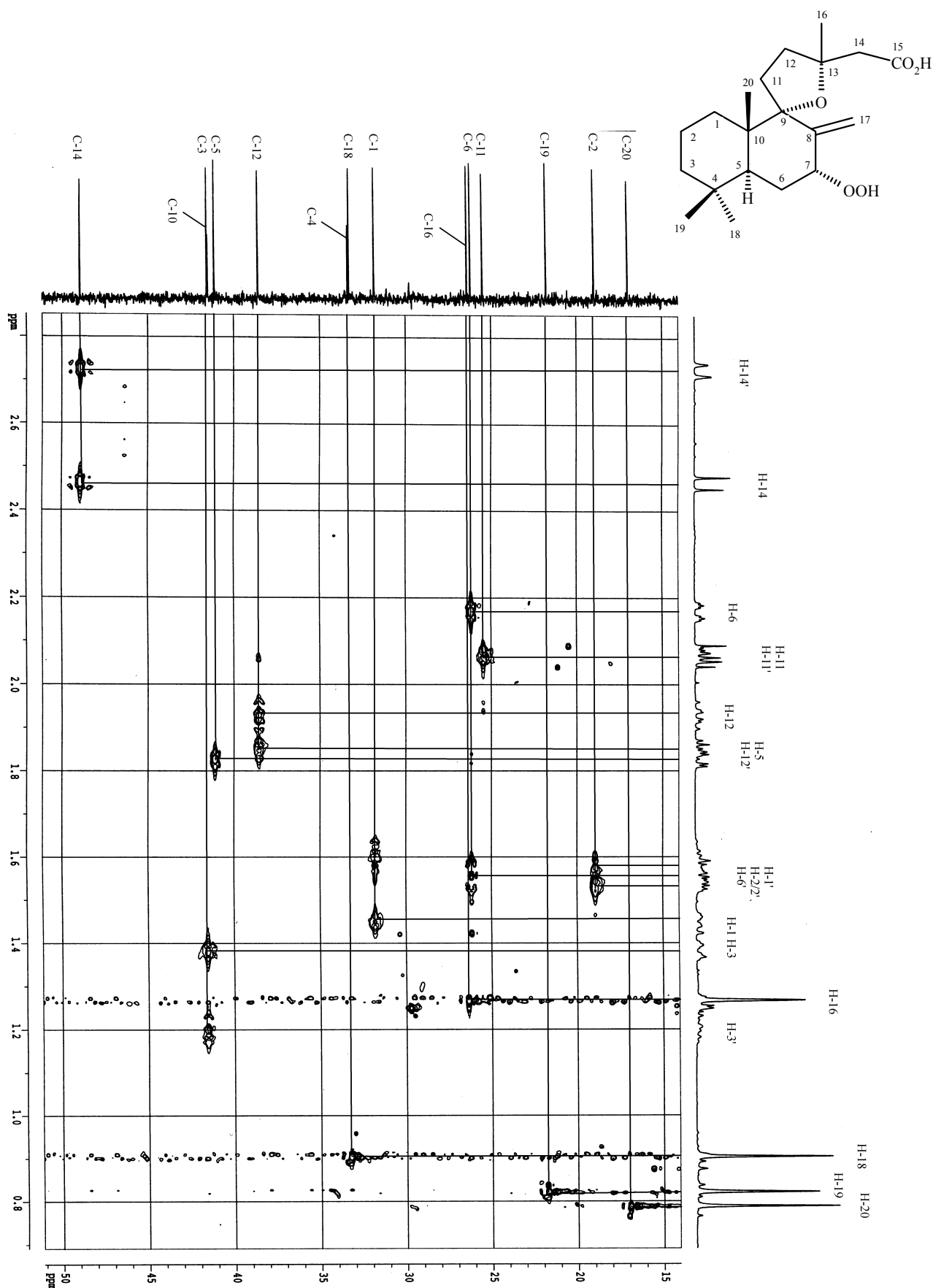
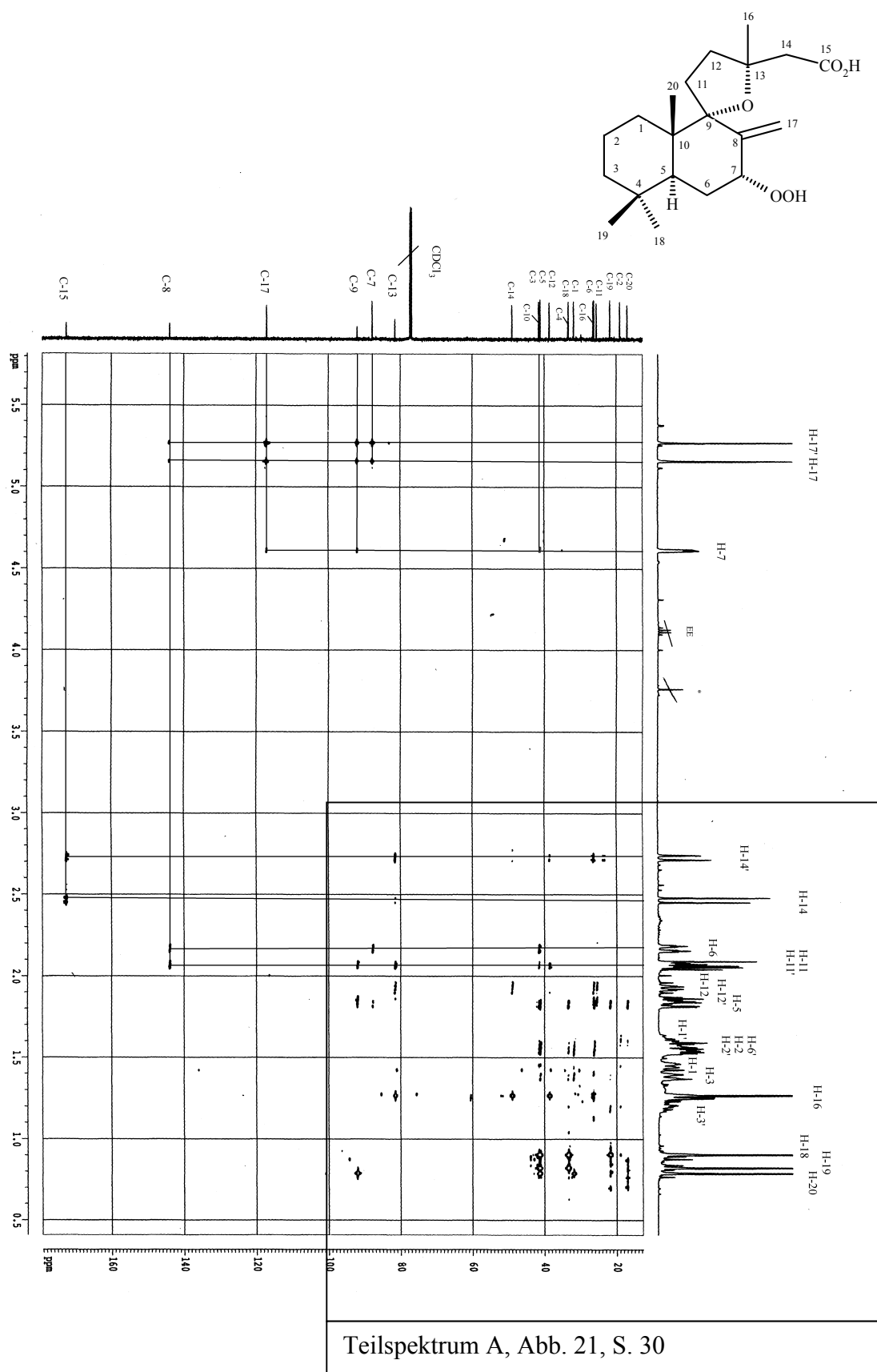
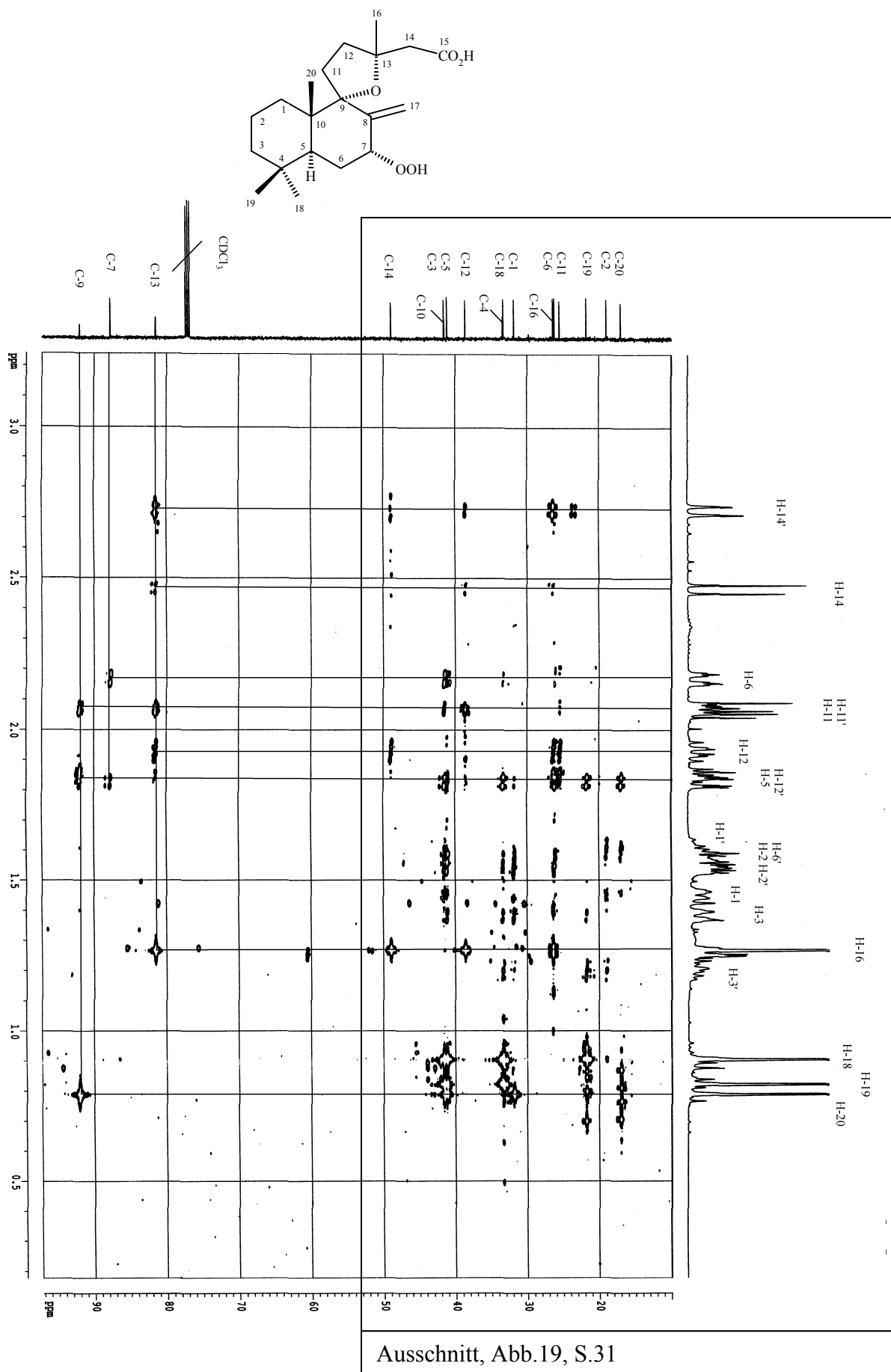
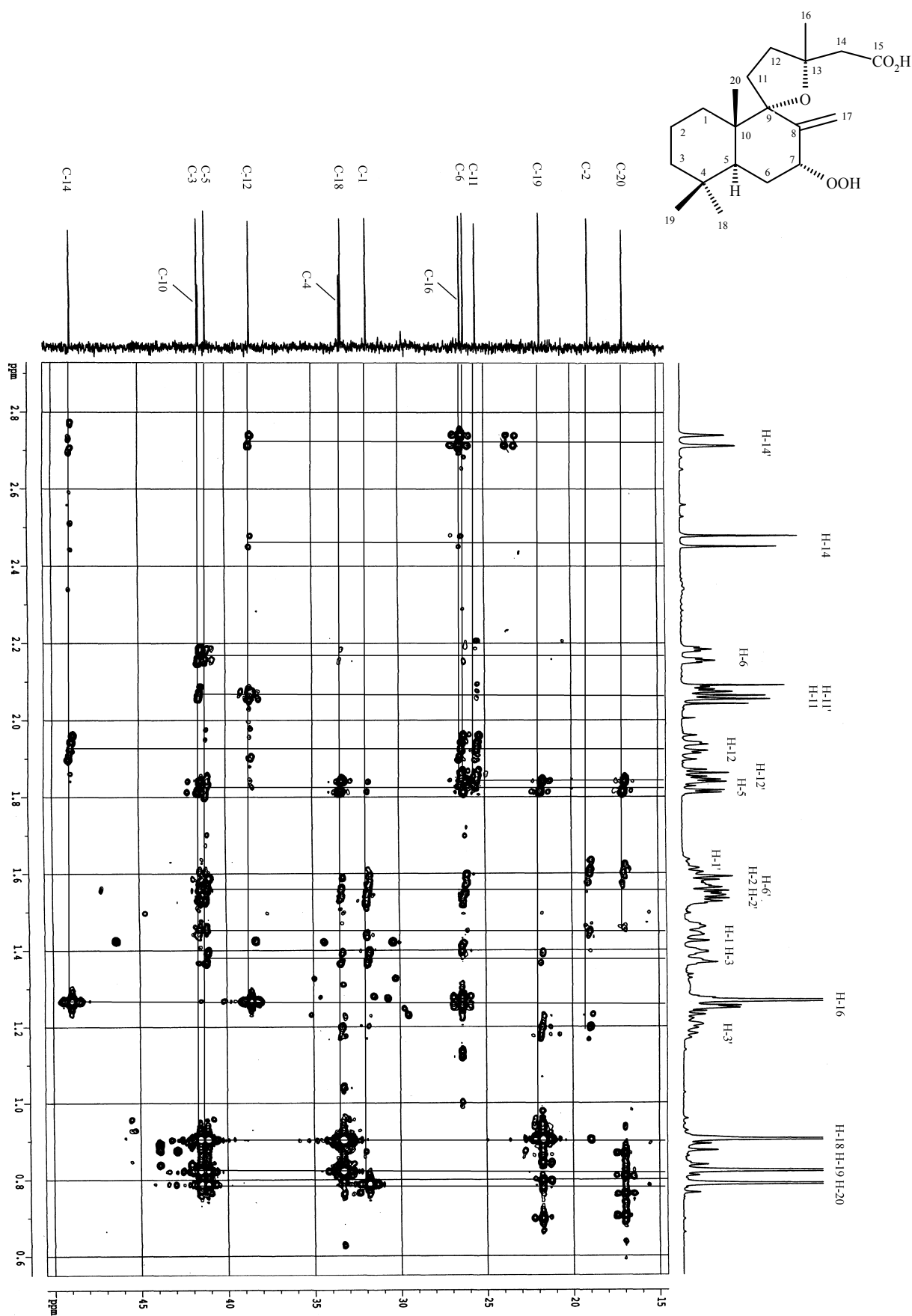


Abb. 16: Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum der Verbindung **1** (500/125 MHz)

Abb. 17: HMBC-Spektrum der Verbindung **1** (500/125 MHz, CDCl₃)

* Verunreinigung

Abb. 18: Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum der Verbindung **1** (500/125 MHz, CDCl₃)

Abb. 19: Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum der Verbindung **1** (500/125 MHz, CDCl₃)

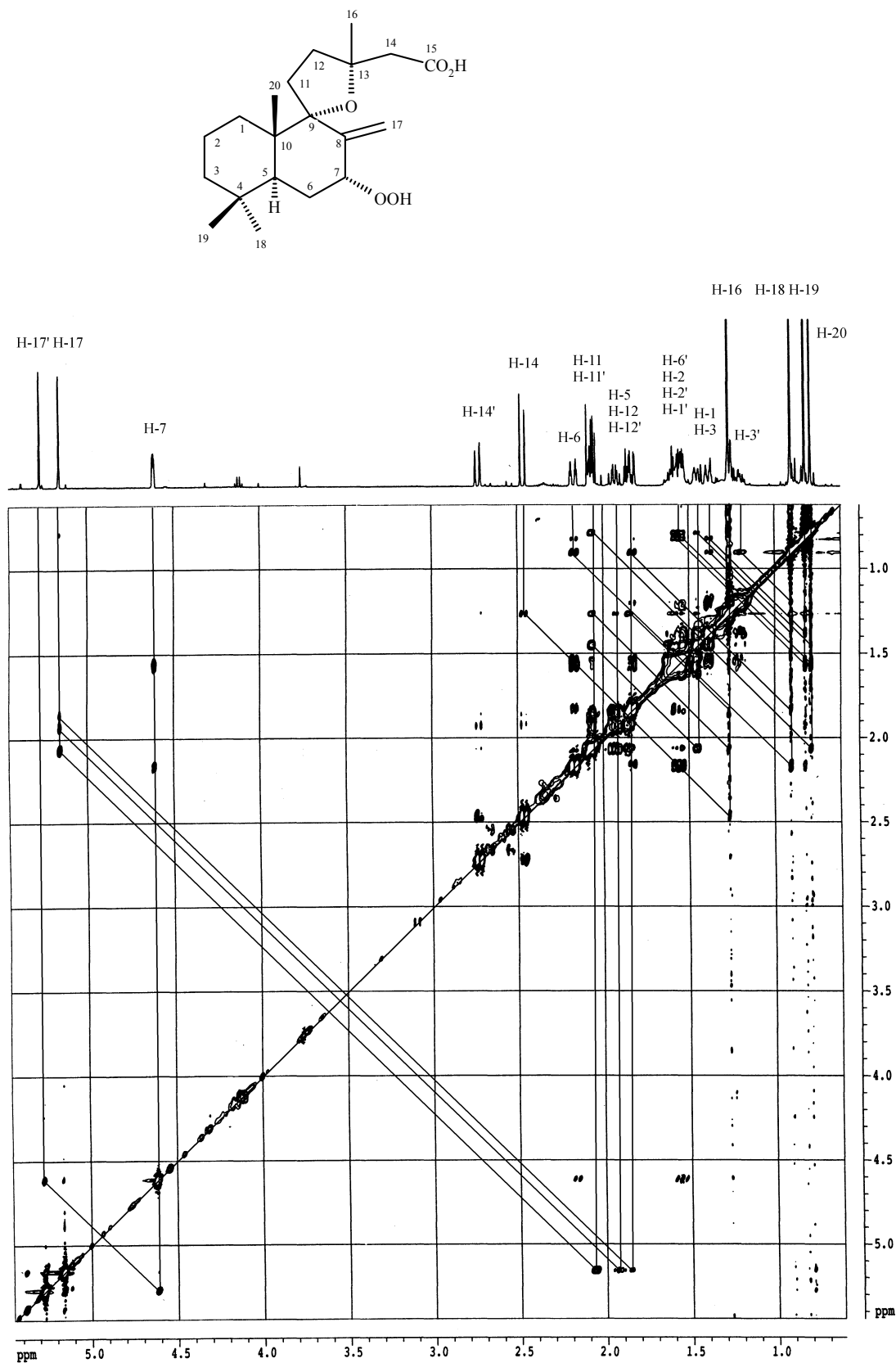
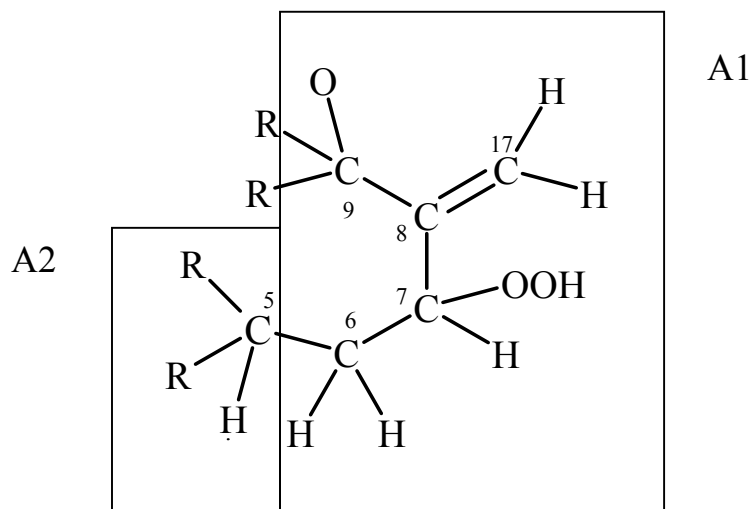


Abb. 20: HH-ROESY-Spektrum der Verbindung **1** (500 MHz, CDCl₃)

2.6.2.2 Ableitung der Teilstruktur A



2.6.2.2.1 Ableitung der Teilstruktur A1

Die kernresonanzspektroskopischen Daten des ^1H -breitbandenkoppelten ^{13}C -NMR-Spektrums und des 90° - bzw. 135° -DEPT-Experiments (Abb. 9, S. 21) lassen für die Verbindung **1** neben einem Carbonyl- und zwei olefinischen Kohlenstoffatomen (C und CH_2) vier quartäre, zwei Methin-, sieben Methylen- und vier Methyl-C-Atome erkennen. So können aus der ermittelten Summenformel $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_5$ zwei der fünf Doppelbindungsäquivalente einer Carbonylfunktion und einer Doppelbindung zugeordnet werden, wohingegen die übrigen drei Doppelbindungsäquivalente einen Tricyclus vermuten lassen.

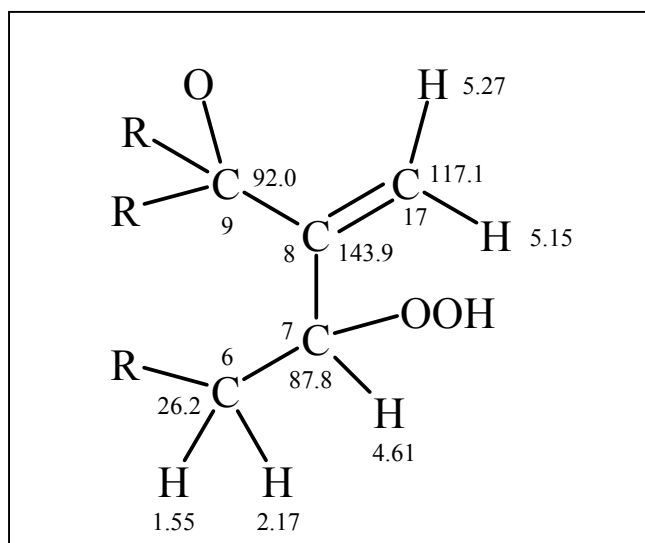


Abb. 21: Isoprenoide Teilstruktur A1 der Verbindung **1**

Ausgangspunkt der isoprenoiden Teilstruktur A1 bildet die disubstituierte Doppelbindung, deren Kohlenstoffatome im ^{13}C -NMR-Spektrum (Abb. 9, S. 21) bei $\delta_{\text{c}}=143.9$ (C) und 117.1 (CH_2) in Resonanz treten. Die zugehörigen olefinischen Protonen, welche im ^1H -NMR-Spektrum (Abb. 11, S. 23) bei $\delta_{\text{H}}=5.27$ (ps) und $\delta_{\text{H}}=5.15$ (ps) Signale zeigen, lassen im zweidimensionalen $\text{HH-COSY-Experiment}$ (Abb. 13, S. 25) das Kreuzsignal einer geminalen Kopplung ($J=15$ Hz) erkennen. Informationen zur Nachbarschaft des quartären olefinischen Kohlenstoffatoms (C-8) liefert das HMBC-Spektrum (Abb. 17, S. 29): hier finden sich neben der zu erwartenden $^2\text{J}_{\text{CH}}$ -Korrelation der olefinischen Protonen zum C-8-Atom zwei weitere $^3\text{J}_{\text{CH}}$ -Korrelationen zu einem quartären C-Atom mit Resonanz bei $\delta_{\text{c}}=92.0$ (C-9) und einem Methin-C-Atom bei $\delta_{\text{c}}=87.8$ (C-7), so dass C-7 und C-9 mit dem quartären Kohlenstoff C-8 verknüpft werden können (Abb. 22). Die relative Tieffeldverschiebung der C-Atome C-7 und C-9 lässt jeweils auf die direkte Anbindung an ein Sauerstoffatom schließen.

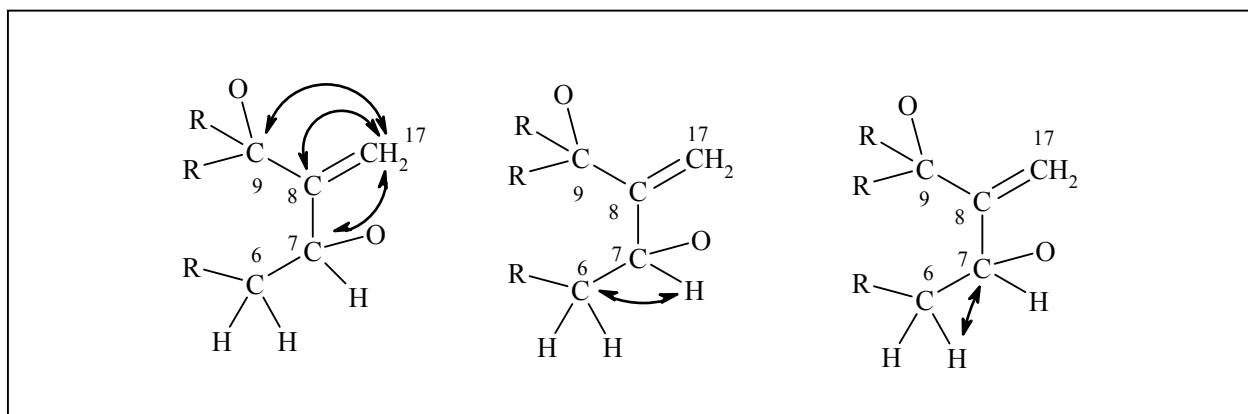
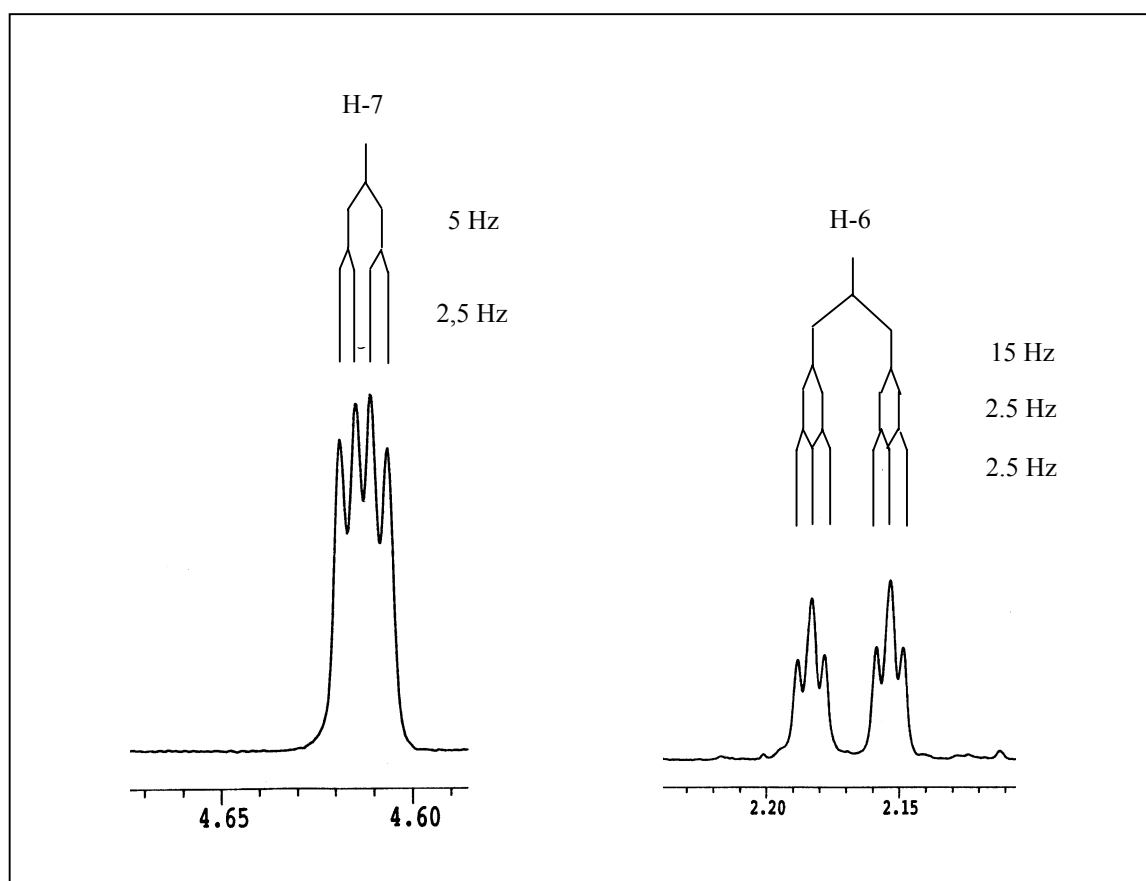


Abb. 22: CH-Korrelationen ($^2\text{J}_{\text{CH}}$, $^3\text{J}_{\text{CH}}$) der isoprenoiden Teilstruktur A1 der Verbindung **1** abgeleitet aus dem HMBC-Spektrum (Abb. 17, S. 29)

Dem Methinkohlenstoffatom C-7 kann nach dem HMQC-Diagramm (Abb. 15, S. 27) das Doppeldublett ($J=5$ und $J=2.5$ Hz) eines Protons mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}}=4.61$ (Abb. 23, S. 35) zugeordnet werden. Die starke Tieffeld-Verschiebung sowohl des C-7 Atoms ($\delta_{\text{c}}=87.8$) wie auch des H-7 Protons ($\delta_{\text{H}}=4.61$) lassen auf das Vorkommen einer Hydroperoxidgruppe am Kohlenstoff C-7 schließen (Abb. 24). Ausgehend von dem Signal des Protons H-7 zeigt das HH-COSY-Spektrum zwei weitere Signale zu Methylenprotonen mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}}=2.17$ (ddd, H-6) und 1.55 (m, H-6'), welche sich als vicinale Kopplungspartner festlegen lassen. Nach dem HMQC-Diagramm kann dessen Methylengruppe die Resonanz bei $\delta_{\text{c}}=26.2$ (C-6) zugeordnet werden, so dass C-6 an C-7 anbindet.

Tabelle 1 CH-Korrelationen der Teilstruktur A1 der Verbindung 1

C-Atom	δ [ppm]	HMOC-Spektrum korreliert mit H-Atom ($^1J_{CH}$)	HMBC-Spektrum korreliert mit H-Atom ($^2J_{CH}$)	HMBC-Spektrum korreliert mit H-Atom ($^3J_{CH}$)
C-6	26.2	H-6	H-5, H-7	-
C-7	87.8	H-7	H-6	H-5, H-17/ 17'
C-8	143.9	-	H-17/ 17'	H-6
C-9	92.0	-	-	H-5, H-7, H-17/ 17'
C-17	117.1	H-17/ 17'	-	H-7

Abb. 23: Ausschnitte aus dem ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung 1 (500 MHz, CDCl_3)

Das HMBC-Experiment liefert die entsprechenden Korrelationssignale von $^2J_{CH}$ -Kopplungen der Methin-(C-7) und der Methylengruppe (C-6) zueinander und bestätigt die Verknüpfung von C-6,

C-7, C-8, C-9 und C-17 miteinander. Die jeweiligen $^1J_{\text{CH}}$ -Konnektivitäten können dem HMOC-Spektrum (Abb. 15, S. 27) entnommen werden.

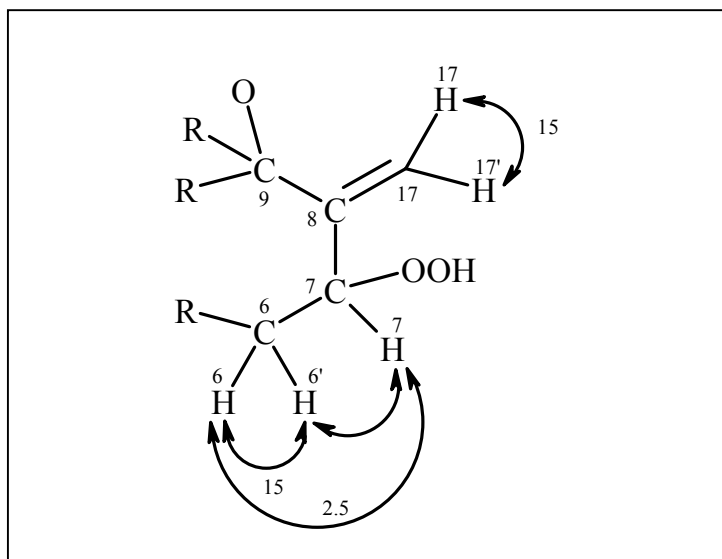


Abb. 24: ^1H -NMR-Korrelationen abgeleitet aus dem HH-COSY-Spektrum (Abb. 13, S. 25) der Verbindung **1**

2.6.2.2.2 Ableitung der Teilstruktur A2

Das Kopplungsmuster eines ddd des Methylenprotons H-6 weist neben der geminalen 15 Hz-Kopplung zu H-6' und der vicinalen 2.5 Hz-Kopplung zum Methinproton H-7 (Abb. 23, S. 35) eine weitere vicinale Kopplung von $J=2.5$ Hz zum Doppeldublett einer Methingruppe mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}}=1.83$ (H-5) auf, deren C-Atom ($\delta_{\text{C}}=41.1$) aufgrund fehlender weiterer CH-Kopplungen quartäre Kohlenstoffatome in unmittelbarer Nachbarschaft hat. Die entsprechenden Kreuzsignale im HH-COSY-Diagramm bestätigen die Kopplung der Protonen H-5, H-6, H-6' und H-7 miteinander (Abb. 24, Abb. 25, S. 36), so dass Teilstruktur A1 durch Anbindung einer Methingruppe zu Teilstruktur A2 erweitert werden kann.

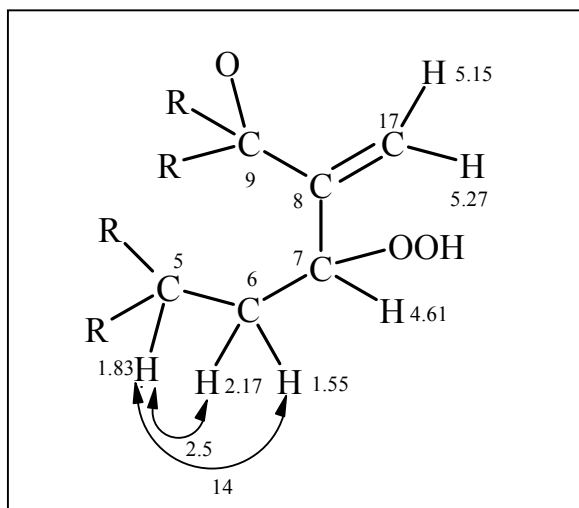
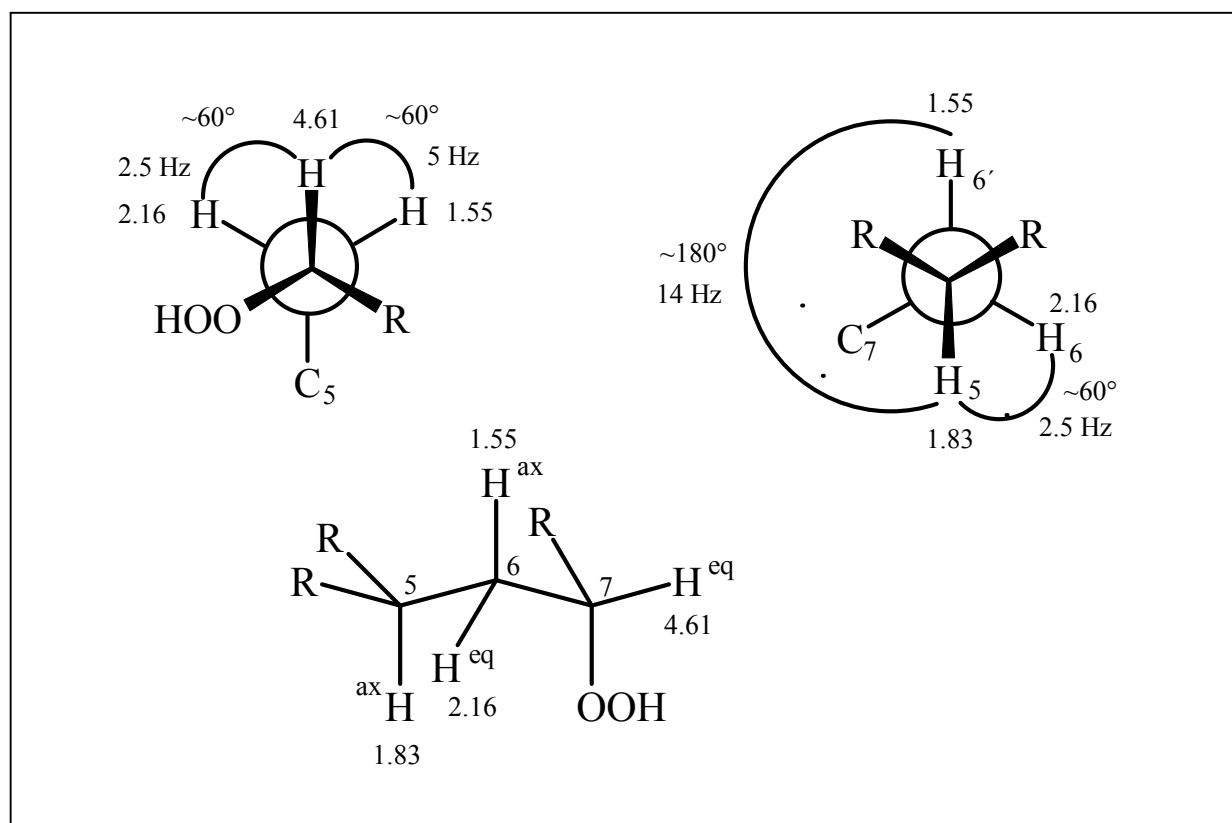


Abb. 25: HH-Korrelationen der Teilstruktur A2 von Verbindung **1** abgeleitet aus dem HH-COSY-Spektrum (Abb. 14, S. 26)

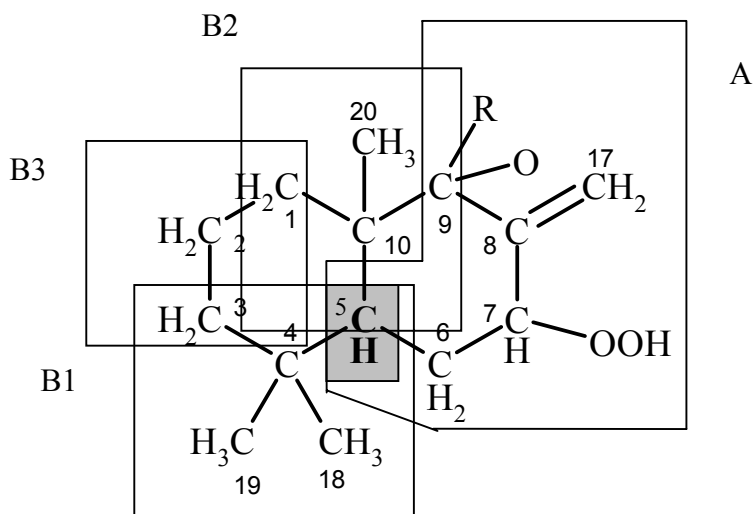
Tabelle 2 ^1H -NMR- und HH-COSY-Daten der Teilstruktur A2 von Verbindung 1

Position	δ [ppm]	J [Hz]	HH-COSY korreliert mit H
H-5	1.83 dd	14; 2.5	H-6/6'
H-6	2.17 ddd	15; 2.5; 2.5	H-5, H-6', H-7
H-6'	1.55 m	-	H-5, H-6, H-7
H-7	4.61 dd	5; 2.5	H-6, H-6'
H-17	5.15 ps	15	H-17'
H-17'	5.27 ps	15	H-17

Anhand der Größe der Kopplungskonstanten lässt sich die relative Konfiguration der Methingruppe bei $\delta_{\text{H}}=1.83$ (H-5) ableiten. Proton H-5 zeigt neben der 2.5 Hz-Kopplung zu H-6 eine 14 Hz-Kopplung zu H-6' und kann sich nach der Carplus-Konroy-Beziehung nur in axialer Position befinden, in der es einen Interplanarwinkel von ca. 180° zu dem ebenfalls axial positionierten Proton H-6' einnimmt. Die niedrigen Kopplungskonstanten, die das Methinproton H-7 ($J=5$; 2.5) und das Methylenproton H-6 ($J=2.5$; 2.5) zu vicinal ständigen Protonen aufweisen, lassen ihrerseits auf eine equatoriale Position schließen (Abb. 26).

Abb. 26: Newman-Projektion (oben) und räumlicher Struktur (unten) der Kohlenstoffkette C₅, C₆ und C₇

2.6.2.3 Ableitung der Teilstruktur B



Teilstruktur B setzt sich aus den Untereinheiten A, B1, B2 und B3 zusammen. Sie kann ausgehend von der bereits in Teilstruktur A diskutierten Methingruppe C-5 abgeleitet werden.

2.6.2.3.1 Ableitung der Teilstruktur B1

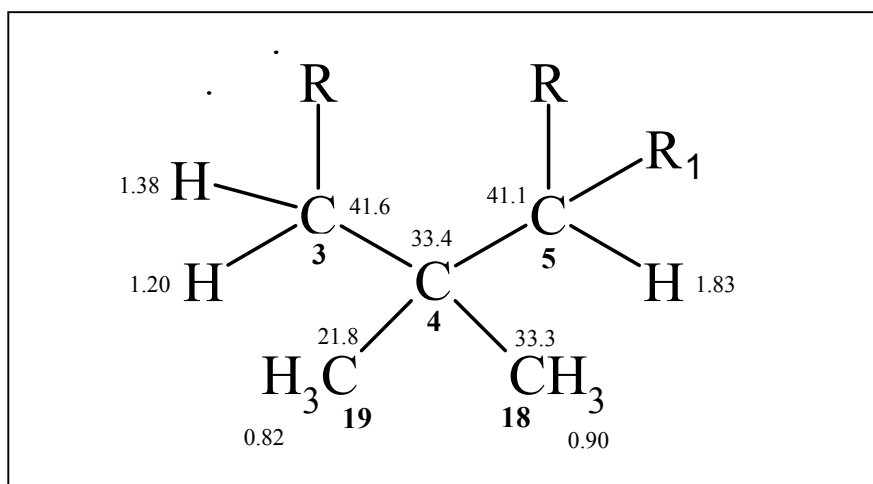


Abb. 27: Teilstruktur B1 der Verbindung 1 (R_1 = Teilstruktur A)

Nach Informationen aus dem HMQC- (Abb. 16, S. 28) und HMBC-Spektrum (Abb. 19, S. 31) lässt sich Teilstruktur B1 folgendermaßen ableiten: betrachtet man das Methin-C-Atom (C-5) im HMBC-Diagramm, so sind dort Kreuzsignale von $^3J_{CH}$ -Korrelationen zu den Protonen zweier Methylgruppen zu erkennen, die jeweils bei $\delta_H=0.90$ (H-18) und $\delta_H=0.82$ (H-19) als Singulett in Resonanz treten. Diese Methylgruppen weisen wiederum das Signal einer $^2J_{CH}$ -Kopplung zu einem quartären C-Atom ($\delta_C=33.4$, C-4) auf, welches die beiden geminalen Methylgruppen trägt (Abb. 28). Durch die entsprechenden $^3J_{CH}$ -Kopplungen der Methylgruppen untereinander wird

deren Konnektivität über das quartäre Kohlenstoffatom C-4 bestätigt, so dass C-4 mit C-5 verknüpft werden kann.

Ausgehend von dem quartären C-4 sind weitere Signale von $^2J_{CH}$ -Korrelationen im HMBC-Spektrum (Abb. 19, S. 31) zu den geminalen Protonen einer Methylengruppe bei $\delta_H=1.38$ (H-3) und $\delta_H=1.20$ (H-3') zu finden, deren Kohlenstoffatom nach dem HMQC-Diagramm bei $\delta_C=41.6$ (C-3) in Resonanz tritt (Abb. 16, S. 28).

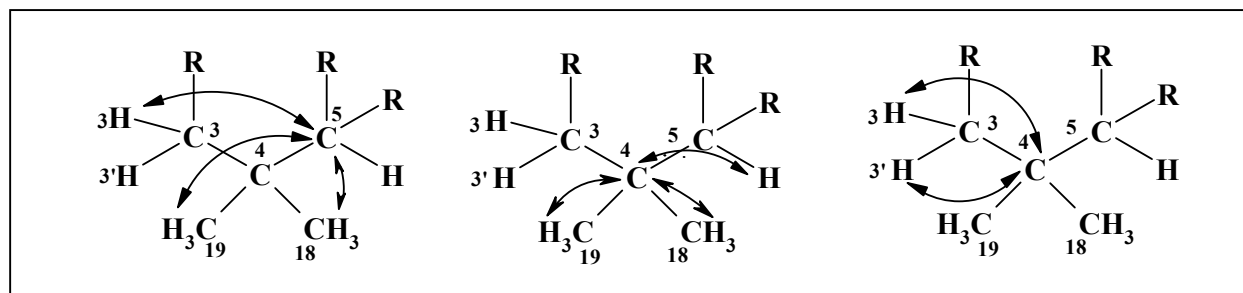


Abb. 28: CH-Korrelationen der Teilstruktur B1 von Verbindung **1** abgeleitet aus den HMQC- (Abb. 16, S. 28) und HMBC-Spektren (Abb. 19, S. 31)

Tabelle 3 CH-Korrelationen der Teilstruktur B1 von Verbindung **1**

C-Atom	δ [ppm]	korreliert mit H-Atom δ [ppm] HMQC-Spektrum ($^1J_{CH}$)	H-Atom δ [ppm] HMBC-Spektrum ($^2J_{CH}$)	H-Atom δ [ppm] HMBC-Spektrum ($^3J_{CH}$)
C-3	41.6	1.20 m (3'), 1.38 d (3)	-	H-5; H-18; H-19
C-4	33.4	-	H-3/3'; H-5; H-18; H-19	-
C-5	41.1	1.83 dd	-	H- 3; H-18; H-19
C-18	33.3	0.90 s	-	H-3/3'; H-5; H-19
C-19	21.8	0.82 s	-	H-3/3'; H-5; H-18

Desweiteren zeigen auch die Kohlenstoffatome C-5, C-18 und C-19 Korrelationen ($^3J_{CH}$) zu eben diesen Methylenprotonen, wie auch das Methylenkohlenstoffatom C-3 Signale von $^3J_{CH}$ -Kopplungen zu den zugehörigen Protonen von C-5, C-18 und C-19 aufweist (Abb. 29, S. 40).

Dies erlaubt die Anbindung der Methylengruppe C-3 an das quartäre Kohlenstoffatom C-4 und vervollständigt somit Teilstruktur B1.

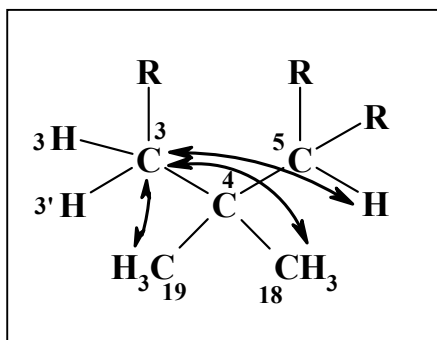


Abb. 29: $^3J_{CH}$ -Korrelationen vom Methylenkohlenstoffatom C-3 in der Teilstruktur B1 von Verbindung **1** abgeleitet aus den HMQC- (Abb. 16, S. 28) und HMBC-Spektren (Abb. 19, S. 31)

Darüber hinaus beobachtet man im HH-COSY-Spektrum (Abb. 14, S. 26) Kreuzsignale der geminalen Methylenprotonen (H-3/3') untereinander ($^2J_{HH}$), sowie das Kreuzsignal eines der Methylenprotonen (H-3') zu den Methylprotonen H-19 ($^4J_{HH}$) die ihrerseits das Korrelationssignal einer $^4J_{HH}$ -Kopplung zu den Methylprotonen H-18 zeigen (Abb. 30).

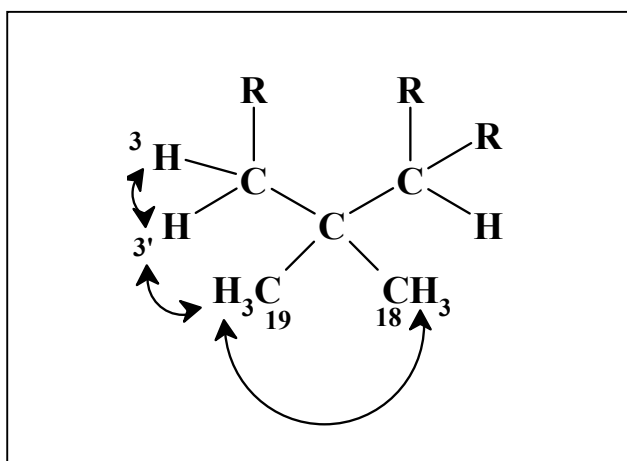
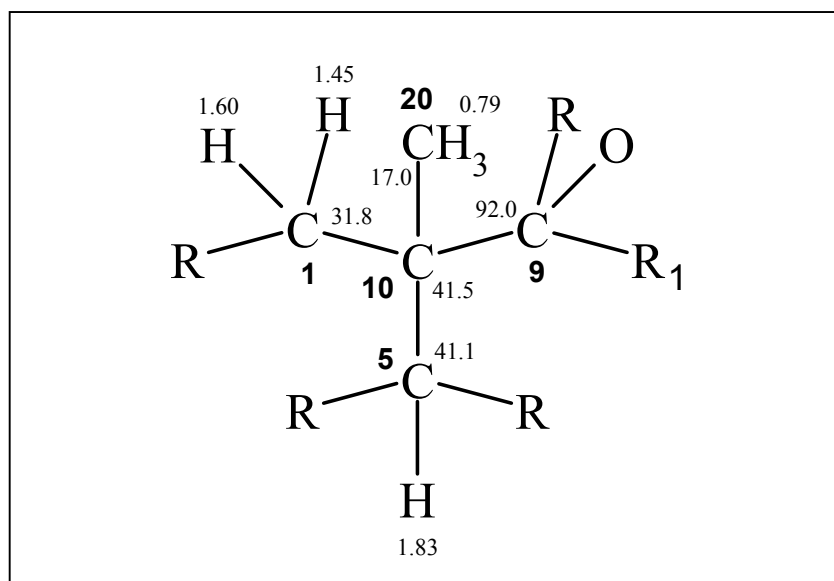


Abb. 30: HH-Korrelationen der Teilstruktur B1 von Verbindung **1** abgeleitet aus dem HH-COSY-Spektrum (Abb. 14, S. 26)

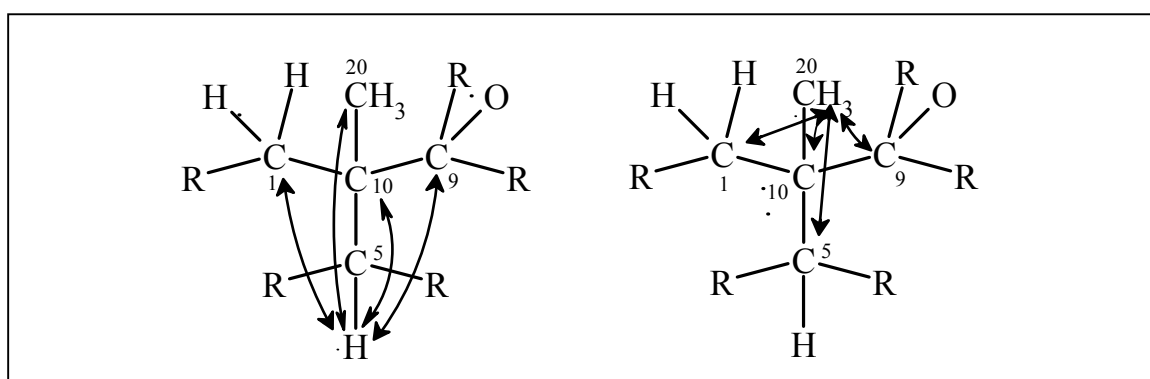
Tabelle 4 ^1H -NMR- und HH-COSY-Daten der Teilstruktur B1

Position	δ [ppm]	J [Hz]	HH-COSY
H-3	1.38 d	14	H-3'
H-3'	1.20 m	-	H-3, H-19
H-5	1.83 dd	9.3	H-6, H-6'
H-18	0.90 s	-	H-19
H-19	0.82 s	-	H-3', H-18

2.6.2.3.2 Ableitung der Teilstruktur B2

Abb. 31: Teilstruktur B2 von Verbindung **1** (R_1 = Teilstruktur A)

Wiederum ausgehend von der Methingruppe C-5 lässt sich Teilstruktur B2 anhand des HMBC-Spektrums (Abb. 19, S. 31) herleiten: so zeigt das Methinproton H-5 neben dem Kreuzsignal einer $^2J_{CH}$ -Korrelation zu dem quartären Kohlenstoffatom C-10 ($\delta_c=41.5$), das somit der Methingruppe benachbart ist, Signale von $^3J_{CH}$ -Kopplungen zu den Kohlenstoffatomen C-1 ($\delta_c=31.8$), C-9 ($\delta_c=92.0$), und C-20 ($\delta_c=17.0$), die folglich an C-10 angebunden werden können und das „Grundgerüst“ von Teilstruktur B2 bilden (Abb. 32).

Abb. 32: CH-Korrelationen ($^2J_{CH}$ und $^3J_{CH}$) in der Teilstruktur B2 von Verbindung **1** abgeleitet aus den HMQC- (Abb. 16, S. 28) und HMBC-Spektren (Abb. 19, S. 31)

Wie aus den DEPT-Experimenten (Abb. 10, S. 22) zu entnehmen ist, handelt es sich bei Kohlenstoffatom C-1 um eine Methylengruppe, bei Kohlenstoffatom C-20 um eine Methylgruppe und bei Kohlenstoffatom C-9 um ein quartäres C-Atom (vgl. Teilstruktur A, S. 33). Die zugehörigen Protonen der Methylengruppe C-1 treten nach dem HMQC-Spektrum (Abb. 16, S. 28) bei $\delta_{\text{H}}=1.45$ (H-1) und 1.60 (H-1') und die der Methylgruppe bei $\delta_{\text{H}}=0.79$ in Resonanz.

Tabelle 5 HMBC-Daten der Teilstruktur B2 der Verbindung 1

C-Atom	δ [ppm]	korreliert mit H-Atom ($^2J_{\text{CH}}$)	Korreliert mit H-Atom ($^3J_{\text{CH}}$)
C-1	31.8	H-2/2'	H-5; H-20
C-5	41.1	-	H-1/1'; H-3; H-18; H-19; H-20
C-9	92.0	-	H-5; H-20
C-10	41.5	H-1/1'; H-5; H-20	-
C-20	17.0	-	H-1/1'; H-5

Die Protonen der Methylgruppe bei $\delta_{\text{H}}=0.79$ (H-20) zeigen im HMBC-Spektrum neben einer $^2J_{\text{CH}}$ -Korrelation zu C-10 $^3J_{\text{CH}}$ -Korrelationen zu C-1, C-5 und C-9. Im HH-COSY-Experiment (Abb. 14, S. 26) erkennt man eine $^4J_{\text{HH}}$ -Korrelation der Methylprotonen H-20 zum Methylenproton H-1' mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}}=1.60$, das seinerseits eine Korrelation zu seinem geminalen Kopplungspartner H-1 mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}}=1.45$ zeigt (Abb. 33).

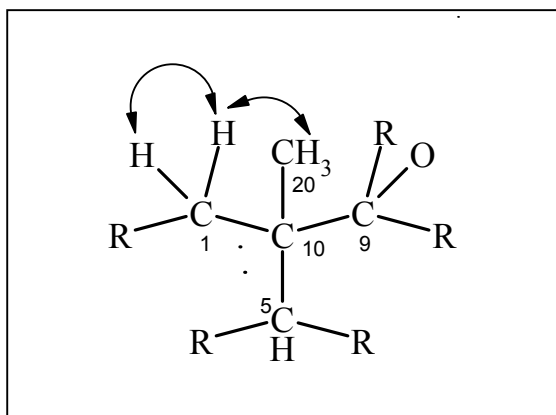


Abb. 33: HH-Korrelationen der Teilstruktur B2 abgeleitet aus dem HH-COSY-Spektrum (Abb. 14, S. 26)

Tabelle 6 ^1H -NMR- und HH-COSY-Daten der Teilstruktur B2

Position	δ [ppm]	J [Hz]	HH-COSY
H-1	1.45 d	10	H-1'
H-1'	1.60 m	-	H-1, H-20
H-20	0.79 s	-	H-1'

2.6.2.3.3 Ableitung von Ring A

Durch die Anbindung von C-10 an C-9 (Bestandteil von Teilstruktur A), erhält man einen Cyclohexanring, **Ring A**, der aus den Atomen C-5, C-6, C-7, C-8, C-9 und C-10 aufgebaut ist (Abb. 34).

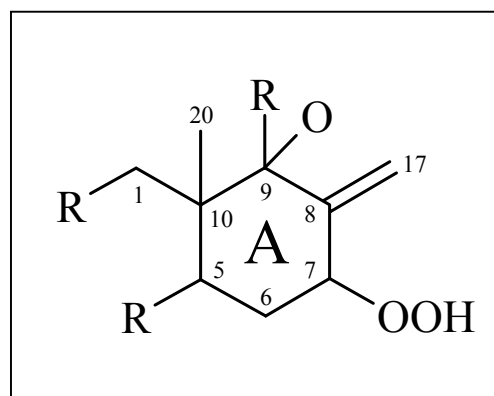
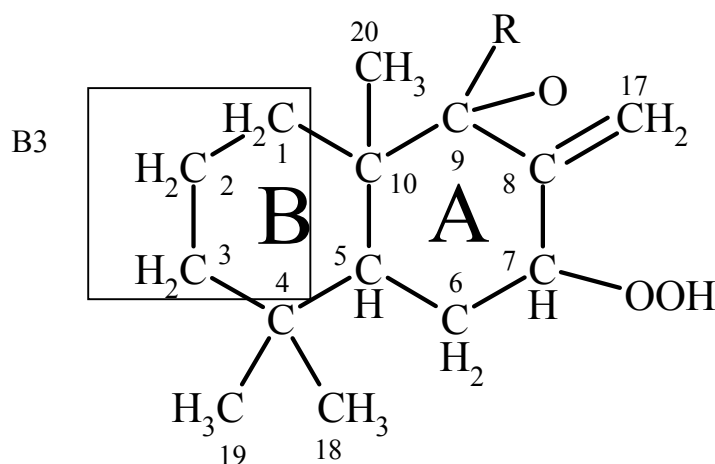


Abb. 34: Ring A - Zusammenschluss von Teilstruktur A und B2

2.6.2.3.4 Ableitung von Teilstruktur B3 und Ring B



Ausgehend von den Methylenkohlenstoffatomen C-1 und C-3 kann Teilstruktur B3 mittels $^2J_{\text{CH}}$ - und $^3J_{\text{CH}}$ -Korrelationen im HMBC-Experiment (Abb. 19, S. 31) hergeleitet werden.

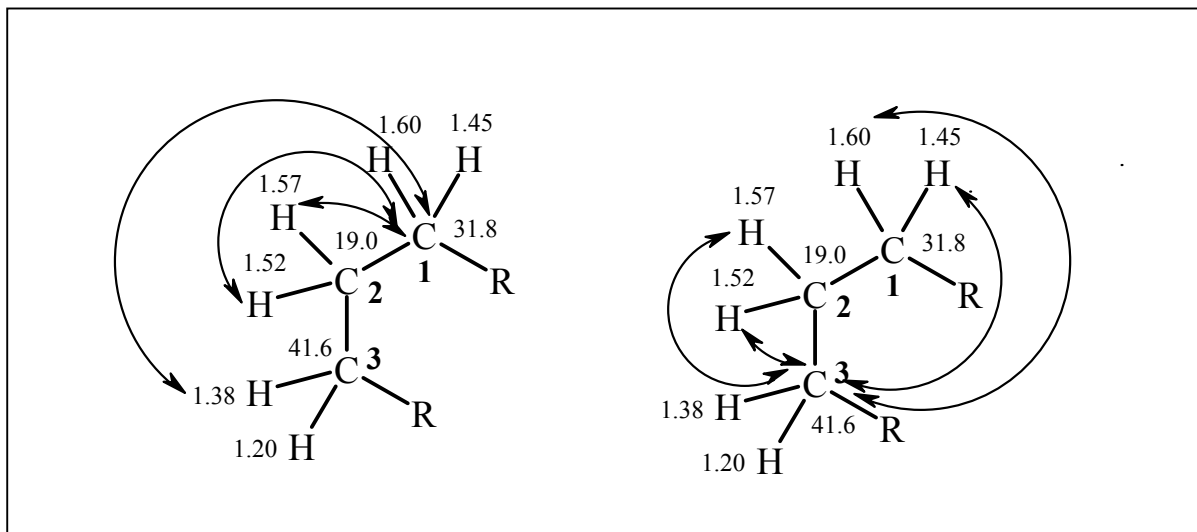


Abb. 35: $^2J_{\text{CH}}$ - und $^3J_{\text{CH}}$ -Korrelationen der Teilstruktur B3 der Verbindung **1**, abgeleitet aus den HMQC- (Abb. 16, S. 28) und HMBC-Spektren (Abb. 19, S. 31)

Beginnend mit dem Methylenkohlenstoff bei $\delta_{\text{c}}=31.8$ (C-1) sind im HMBC-Diagramm Kreuzsignale sowohl einer $^3J_{\text{CH}}$ -Kopplung zu dem Proton bei $\delta_{\text{H}}=1.38$ (d, H-3) als auch zweier $^2J_{\text{CH}}$ -Kopplungen zu den vicinal ständigen Methylenprotonen bei $\delta_{\text{H}}=1.57$ (m, H-2) und 1.52 (m, H-2') zu erkennen (Abb. 35), so dass man davon ausgehen kann, dass die Methylengruppe C-1 nicht direkt, sondern über eine weitere Methylengruppe mit C-3 verbunden ist. Die beiden geminalen Protonen (H-2/2') sind nach Informationen aus dem HMQC-Diagramm dem Kohlenstoffatom C-2, welches das gesuchte Bindeglied zwischen C-1 und C-3 darstellt und bei $\delta_{\text{c}}=19.0$ in Resonanz tritt, zuzuordnen. Von dem Methylenkohlenstoff bei $\delta_{\text{c}}=41.6$ (C-3) aus bestätigen die entsprechenden $^2J_{\text{CH}}$ - und $^3J_{\text{CH}}$ -Kopplungen zu den Methylenprotonen an C-2 ($^2J_{\text{CH}}$) und C-1 ($^3J_{\text{CH}}$) die Konnektivität der drei Methylengruppen C-1, C-2 und C-3 miteinander (Abb. 35).

Im HH-COSY-Diagramm (Abb. 14, S. 26) findet man die zu erwartenden Korrelationen der Protonen: so koppeln sowohl die geminalen Methylenprotonen, als auch die Protonen der direkt benachbarten Methylengruppen (C-1 und C-2, C-2 und C-3) miteinander. Die jeweiligen $^2J_{\text{CH}}$ - und $^3J_{\text{CH}}$ -Korrelationen können der folgenden Abbildung entnommen werden (Abb. 36, S. 45).

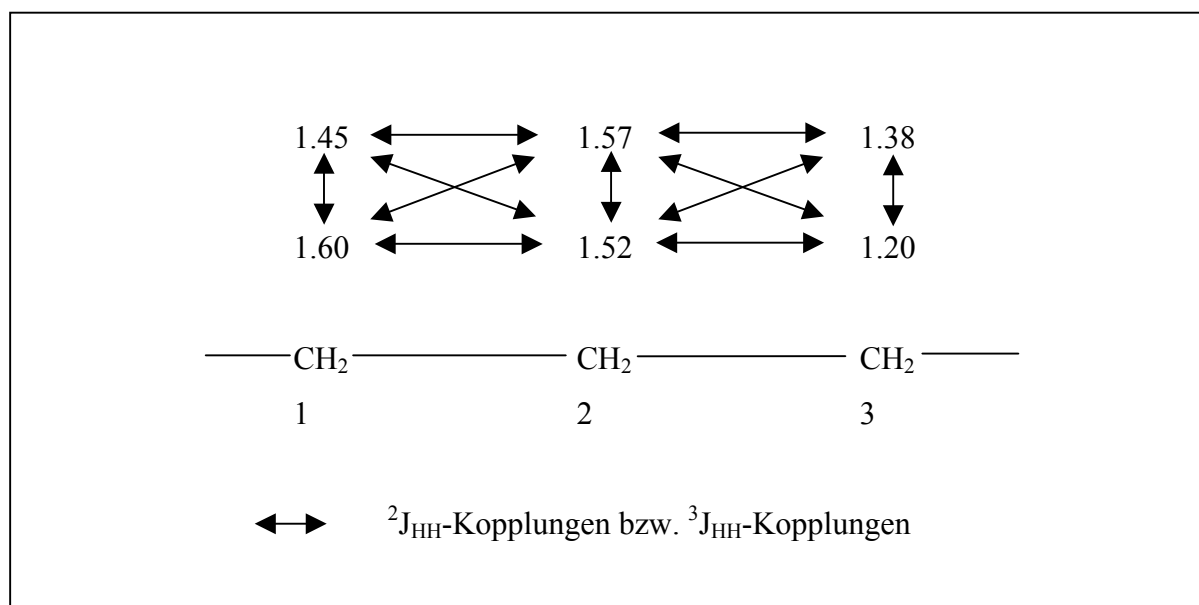


Abb. 36: HH-Korrelationen der Methylengruppen C-1, C-2 und C-3 abgeleitet aus dem HH-COSY-Diagramm (Abb. 14, S. 26)

Auftretende $^4J_{HH}$ -Korrelationen der Protonen an H-1 und H-3 sind in der nachstehenden Tabelle aufgeführt (Tabelle 7).

Tabelle 7 ^1H -NMR- und HH-COSY-Daten der Teilstruktur B3 der Verbindung 1

Position	δ [ppm]	J [Hz]	HH-COSY ($^2J_{HH}$)	HH-COSY ($^3J_{HH}$)	HH-COSY ($^4J_{HH}$)
H-1	1.45 d	10	H-1'	H-2/2'	H-3/3'
H-1'	1.60 m	-	H-1	H-2/2'	-
H-2	1.57 m	-	H-2'	H-1/1', H-3/3'	-
H-2'	1.52 m	-	H-2	H-1/1', H-3/3'	-
H-3	1.38 d	14	H-3'	H-2/2'	H-1/1'
H-3'	1.20 m	-	H-3	H-2/2'	H-1/1'

Die Konnektivität der drei Methylengruppen C-1, C-2 und C-3 miteinander führt zu einem weiteren Cyclohexanring, Ring B, der sich aus den Atomen C-1, C-2, C-3, C-4, C-5 und C-10 zusammensetzt (Abb. 37) und der zusammen mit Ring A Bestandteil eines Decahydronaphthalin (Decalin) Ringsystems ist. Desweiteren sind ebenfalls $^3J_{CH}$ -Korrelationen der Kohlenstoffatome C-4 und C-10 zu den Methylenprotonen an C-2 im HMBC-Diagramm zu finden (Abb. 19, S. 31).

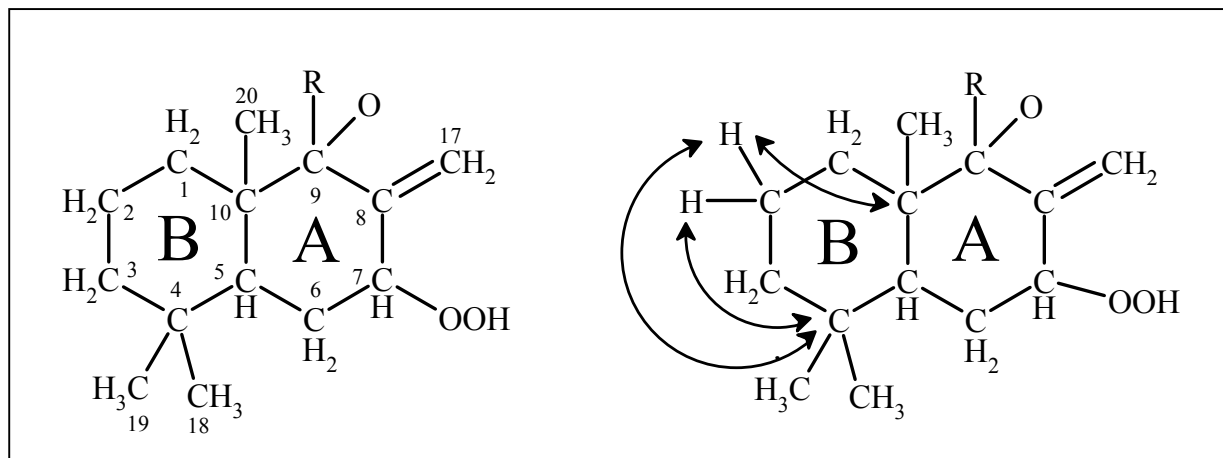
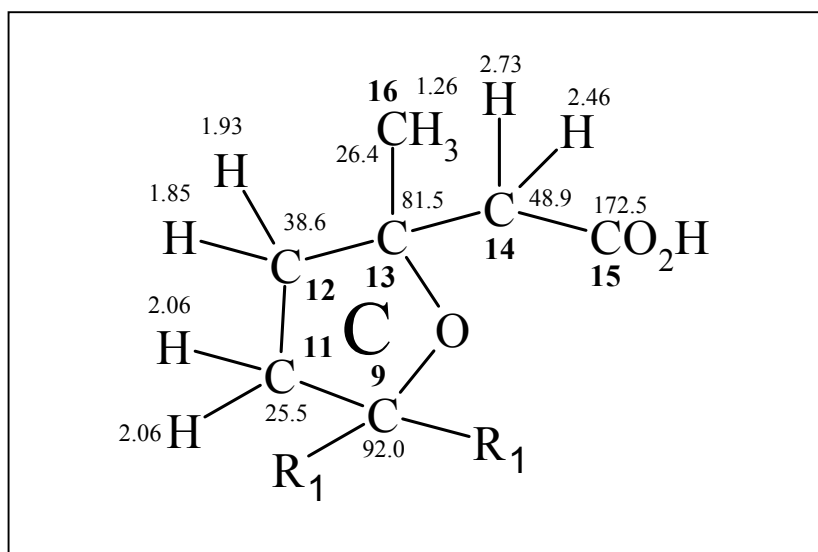


Abb. 37: $^3J_{CH}$ -Kopplungen im HMBC-Diagramm der Ringe A und B der Verbindung **1** abgeleitet aus den HMQC- (Abb. 16, S. 28) und HMBC-Spektren (Abb. 19, S. 31)

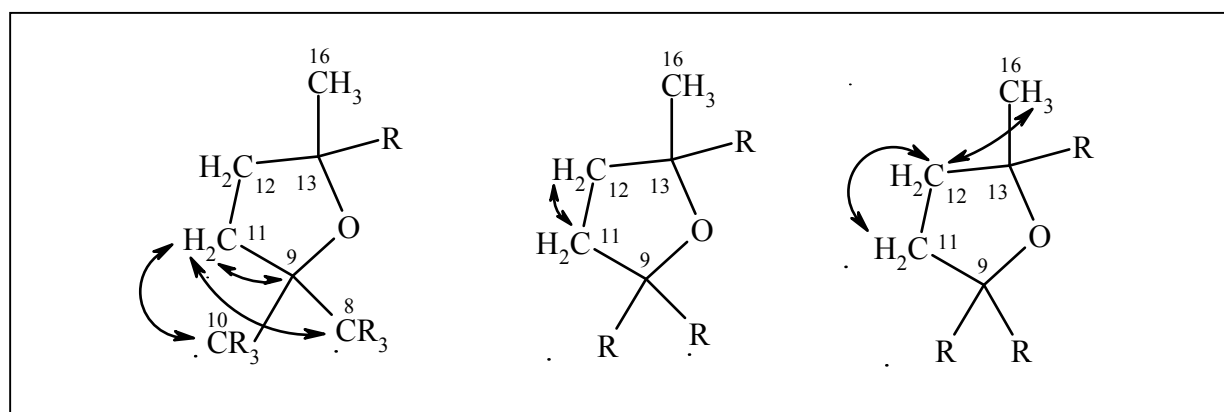
Tabelle 8 CH-Korrelationen des Ringes B der Verbindung **1**

C-Atom	δ [ppm]	korreliert mit H-Atom δ [ppm] HMQC-Spektrum ($^1J_{CH}$)	H-Atom δ [ppm] HMBC-Spektrum ($^2J_{CH}$)	H-Atom δ [ppm] HMBC-Spektrum ($^3J_{CH}$)
C-1	31.8	H-1/1'	H-2/2'	H-3
C-2	19.0	H-2/2'	H-1/1'; H-3'	-
C-3	41.6	H-3/3'	H-2/2'	H-1/1'
C-4	33.4	-	H-3/3'	H-2/2'
C-5	41.1	H-5	-	H-1; H-3
C-10	41.5	-	H-1/1'	2

2.6.2.4 Ableitung der Teilstruktur C und Ring C

Abb. 38: Teilstruktur C der Verbindung **1** (R_1 = Ring A)

Ausgangspunkt dieser Teilstruktur bildet das quartäre Atom bei $\delta_C = 92.0$ (C-9) welches schon in Teilstruktur A (S. 33) und B2 (S. 41) diskutiert wurde und Bestandteil des Cyclohexanringes "Ring A" ist. Im HMBC-Diagramm (Abb. 18, S. 30) ist das Kreuzsignal einer $^2J_{CH}$ -Kopplung von C-9 zu dem Multiplett zweier Methylenprotonen mit Resonanz bei $\delta_H = 2.06$ (m, H-11/11') zu finden, die nach dem HMQC-Spektrum und dem DEPT-Experiment (Abb. 16, S. 28 und Abb. 10, S. 22) einem Methylenkohlenstoff mit Resonanz bei $\delta_C = 25.5$ (C-11) zugeordnet werden können. Daraus erfolgt die Anbindung des Kohlenstoffatoms C-11 an C-9, was durch zusätzliche $^3J_{CH}$ -Kopplungen der Methylenprotonen H-11/11' zu den quartären Atomen C-8 und C-10 (Ring A) bestätigt wird (Abb. 39).

Abb. 39: CH-Korrelationen ($^2J_{CH}$, $^3J_{CH}$) in der Teilstruktur C abgeleitet aus den HMQC- (Abb. 16, S. 28) und HMBC-Spektren (Abb. 18, S. 30)

Desweiteren sind im HMBC-Spektrum $^2J_{CH}$ -Kopplungen von C-11 zu einer unmittelbar benachbarten Methylengruppe zu finden, deren Protonen bei $\delta_H = 1.93$ (m, H-12) und $\delta_H = 1.85$ (dt, H-12') in Resonanz treten und deren Kohlenstoffatom nach dem HMQC-Diagramm (Abb. 16, S. 28) eine Resonanz bei $\delta_C = 38.6$ (C-12) zeigt. Die Korrelationen der benachbarten Methylenprotonen an C-11 und C-12 untereinander erkennt man im HH-COSY-Diagramm (Abb. 14, S. 26) an den entsprechenden Kreuzsignalen, deren schematische Darstellung in Abb. 40 wiedergegeben ist. Ausgehend vom Kreuzsignal bei $\delta_H = 2.06$ ($^2J_{HH}$ -Kopplung) kann folgender Kopplungsweg verfolgt werden (Abb. 40):

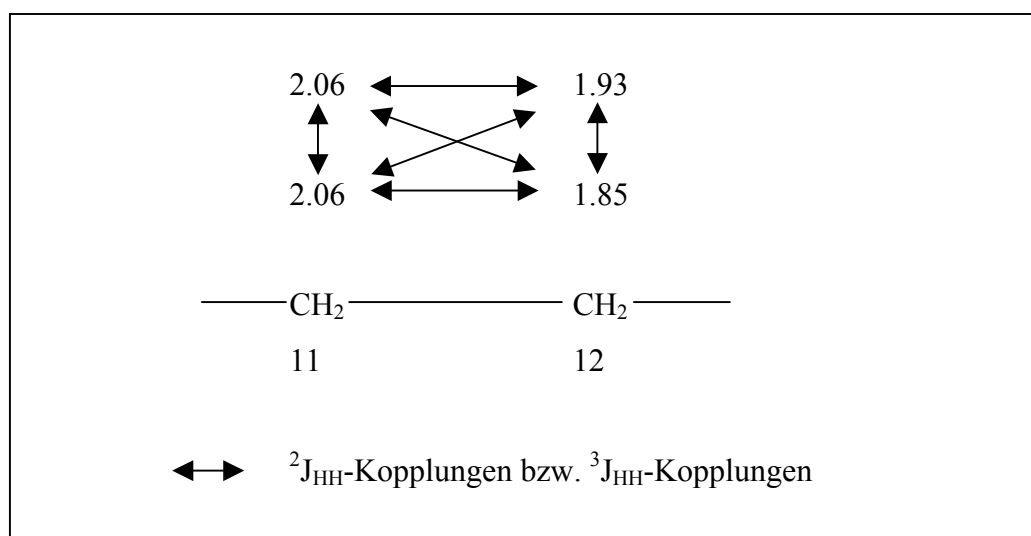


Abb. 40: HH-Korrelationen der Methylengruppen C-11 und C-12 abgeleitet aus dem HH-COSY-Spektrum (Abb. 14, S. 26)

Tabelle 9 1H -NMR- und HH-COSY-Daten der Teilstruktur C der Verbindung 1

Position	δ [ppm]	J [Hz]	HH-COSY Korreliert mit H ($^2J_{HH}$)	HH-COSY Korreliert mit H ($^3J_{HH}$)	HH-COSY Korreliert mit H ($^4J_{HH}$)
H-11/11'	2.06 m	-	H-11/11'	H-12/12'	-
H-12	1.93 m	-	H-12'	H-11/11'	H-16
H-12'	1.85 dt	5	H-12	H-11/11'	-
H-14	2.46 d	15	H-14'	-	-
H-14'	2.73 d	15	H-14	-	H-16
H-16	1.26 s	-	-	-	H-12; H-14'

Das Kohlenstoffatom C-12 bei $\delta_{\text{C}} = 38.6$ zeigt im HMBC-Diagramm (Abb. 19, S. 31) neben dem Signal einer $^2\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung zu den Methylenprotonen H-11/11' das Kreuzsignal einer $^3\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung zu den Methylprotonen, welche bei $\delta_{\text{H}} = 1.26$ als Singulett in Resonanz treten. Das Aufspaltungsmuster eines Singuletts indiziert die unmittelbare Nachbarschaft eines quartären Kohlenstoffatoms, das einerseits mit der Methylengruppe C-12 und andererseits mit der Methylgruppe C-16 verknüpft ist. Nach dem HMBC- und dem DEPT-Spektrum (Abb. 9, S. 21) handelt es sich um das quartäre Kohlenstoffatom mit Resonanz bei $\delta_{\text{C}} = 81.5$ (C-13), welches sowohl Signale von $^2\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplungen zu den Protonen H-12/12' und H-16, als auch Signale von $^3\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplungen zu den Methylenprotonen H-11/11' zeigt (Abb. 41). Die relative Tieffeldverschiebung dieses C-Atoms lässt auf die unmittelbare Nachbarschaft von Sauerstoff schließen.

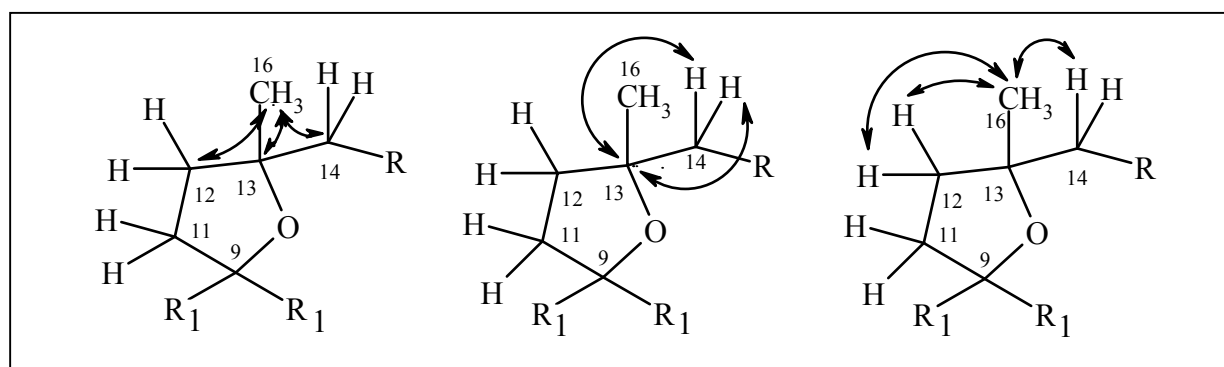


Abb. 41: CH-Korrelationen ($^2\text{J}_{\text{CH}}$, $^3\text{J}_{\text{CH}}$) in der Teilstruktur C der Verbindung **1** ($\text{R}_1 = \text{Ring A}$) abgeleitet aus den HMQC- (Abb. 16, S. 28) und HMBC-Spektren (Abb. 19, S. 31)

Die stark entschirmten Resonanzen der quartären Kohlenstoffatome C-9 und C-13 lassen zusammen mit den ebenfalls relativ tieffeldverschobenen Signalen der Methylengruppen C-11* und C-12* auf das Vorhandensein eines THF-Ringes (Ring C) schließen, der über das quartäre Kohlenstoffatom C-9 als zentrales Spiroatom mit dem Cyclohexanring (Ring A) verbunden ist. Von C-13 ausgehend sind im HMBC-Spektrum weitere Signale von $^2\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplungen zu Protonen mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}} = 2.46$ (d, H-14) und $\delta_{\text{H}} = 2.73$ (d, H-14') zu erkennen, welche im ^1H -NMR-Spektrum (Abb. 42, S. 50) das Aufspaltungsmuster eines AB-Systems geminaler Protonen mit einer Kopplungskonstante von $J = 15$ Hz zeigen. Nach dem HMQC-Spektrum (Abb. 16, S. 28) können diese dem Methylenkohlenstoffatom mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}} = 48.9$ (C-14) zugeordnet werden, welches somit an C-13 anknüpft (Abb. 41).

* NMR-Verschiebungsdaten von THF: $\delta_{\text{H}} = 1.85$ und 3.75 ; $\delta_{\text{C}} = 26.5$ und 68.4 [34]

[34] Hesse, Meier, Zeeh, Spektroskopische Methoden i.d. organischen Chemie **1987**, Georg Thieme Verlag Stuttgart

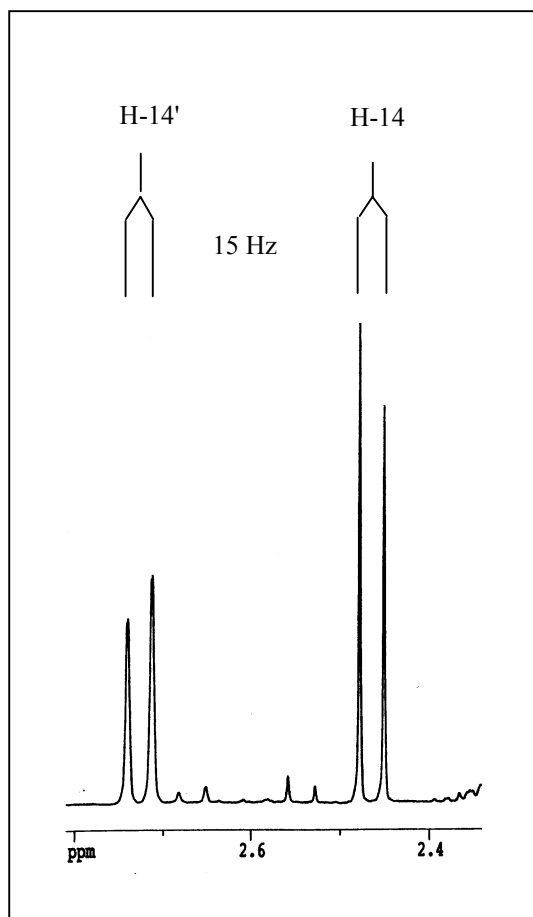


Abb. 42: Ausschnitt aus dem ¹H-NMR-Spektrum der Verbindung **1** (500 MHz, CDCl₃)

Darüberhinaus zeigt auch die Methylgruppe C-16 im HMBC-Spektrum (Abb. 17, S. 29) die entsprechenden Signale von ³J_{CH}-Kopplungen zu den beiden Methylengruppen C-12 und C-14 (Abb. 41).

Die unmittelbare Nachbarschaft des Carbonylkohlenstoffs einer Carbonsäurefunktion mit Resonanz bei $\delta_C = 117.1$ (C-15) zu C-14 wird durch das Auftreten einer ²J_{CH}-Kopplung im HMBC-Spektrum von C-15 zu den Methylprotonen H-14/14' bestätigt und vervollständigt Teilstruktur C (Abb. 43):

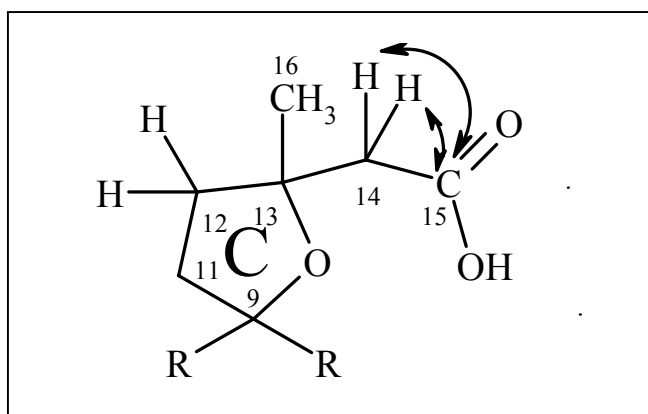


Abb. 43: CH-Korrelation (²J_{CH}) in der Teilstruktur C der Verbindung **1** abgeleitet aus den HMQC- (Abb. 15, S. 27) und HMBC-Spektren (Abb. 17, S. 29)

Tabelle 10 CH-Korrelationen der Teilstruktur C

C-Atom	δ [ppm]	korreliert mit H-Atom ($^1J_{CH}$)	korreliert mit H-Atom ($^2J_{CH}$)	korreliert mit H-Atom ($^3J_{CH}$)
C-9	92.0	-	H-11/11'	-
C-11	25.5	H-11/11'	-	H-12/12'
C-12	38.6	H-12/12'	H-11/11'	H-14/14'; H-16
C-13	81.5	-	H-12/12'; H-14/14'; H-16	H-11/11'
C-14	48.9	H-14/14'	-	H-12/12'; H-16
C-15	172.5	-	H-14/14'	-
C-16	26.4	H-16	-	H-12; H-14/14'

2.6.2.5 Ableitung der Konstitution der Verbindung 1

Durch Anfügen von Teilstruktur C an Teilstruktur B, welche beide den quartären, chiralen Kohlenstoff C-9 beinhalten und über diesen miteinander verknüpft werden können, gelangt man zu Verbindung **1**, der 7 α -Peroxy7,8-dihydro-8(17)-engrindelasäure. Hierbei handelt es sich um ein Diterpen vom Labdan-Typ, welches von der Grindelasäure (Abb. 2, S. 12) abgeleitet werden kann. Die Positionen 5, 7, 10 und 13 sind weitere chirale Zentren.

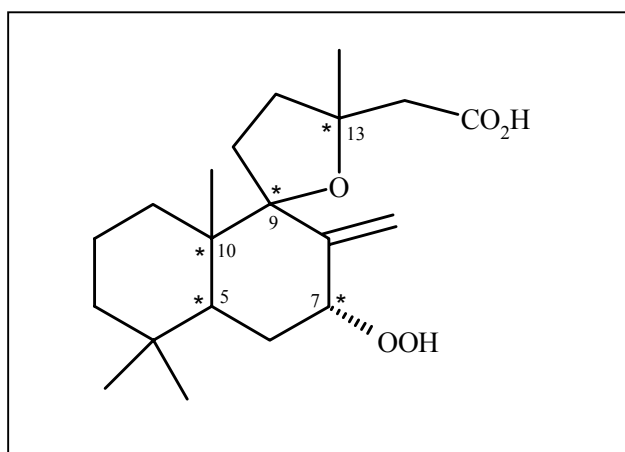


Abb. 44: Konstitutionsformel der Verbindung **1** (7 α -Peroxy7,8-dihydro-8(17)-engrindelasäure)

Die Struktur der Verbindung **1** wurde bereits von M. González Sierra in einem Artikel vorgestellt [35], um die kernresonanzspektroskopischen Effekte der Hydroperoxidgruppe auf das α -, β - und γ -C-Atom im Vergleich zum korrespondierenden Alkohol aufzuzeigen. Die tabellarische Gegenüberstellung der ^{13}C -NMR-Werte erfolgt in Tabelle 14, S. 61.

2.6.2.6 Diskussion der Konfiguration von Verbindung 1

2.6.2.6.1 Das HH-ROESY-Spektrum und die relative Konfiguration von Verbindung 1

Zur Klärung der **relativen Stereochemie** wurde das HH-ROESY-Spektrum (Abb. 20, S. 32) der Verbindung **1** aufgenommen. Hierbei erscheinen Kreuzsignale von sich im Molekül räumlich nahe stehenden, nicht unbedingt koppelnden, Protonen, unabhängig von der Anzahl der sie trennenden Bindungen. Da HH-COSY-Kreuzsignale hierbei nicht vollständig unterdrückt werden, muß deren Lage im 2-D-Diagramm bekannt sein. Tabelle 13 (S. 58) gibt Aufschluss über sich räumlich nahestehenden Protonen.

Ausgehend von der am Decalinring axial ständigen Methylgruppe C-20 sind dipolare Wechselwirkungen zu den Protonen H-1, H-2, H-6', H-11 und H-11' im HH-ROESY-Spektrum zu erkennen (Abb. 20, S. 32), welche somit in einer Ebene (ober- oder unterhalb der Papierebene) mit dieser Methylgruppe liegen. Ebenfalls axial zum Decalingerüst befindet sich das Proton H-5 (Abb. 26, S. 37). Da es keine Signale im HH-ROESY-Diagramm zu den Methylprotonen H-20 zeigt, kann man von einer transständigen Position dieser beiden Gruppen zueinander ausgehen. Dies steht im Einklang mit dem zu H-5 transständigen Proton H-6' (ebenfalls Abb. 26, S. 37), welches dipolare Wechselwirkungen zu der Methylgruppe C-20 zeigt und folglich mit dieser in einer Ebene liegt. Ausgehend von der räumlichen Wechselwirkung der Methylprotonen H-20 zu den Methylenprotonen H-11/ 11' muss die dem Spiroatom C-9 unmittelbar benachbarte Methylengruppe C-11 in der gleichen Ebene wie C-20 (Abb. 45, S. 53) liegen.

Die olefinischen Protonen an C-17 zeigen in unterschiedliche Richtung. Das etwas hochfeld verschobenere Proton bei $\delta_{\text{H}} = 5,15$ ppm (H-17) steht in räumlicher Nähe mit den Protonen an C-11 und ist somit zum Tetrahydrofuranring gerichtet. Daraus ergibt sich, daß das geminale Proton bei $\delta_{\text{H}} = 5,27$ ppm (H-17') der Peroxogruppe zugewandt ist, was durch das entsprechende Kreuzsignal zum equatorialen Proton in Position C-7 bestätigt wird. Von den beiden diastereotopen Protonen an C-14 liegt dasjenige mit dem etwas niedrigeren Verschiebungswert von $\delta = 2,4$ ppm (H-14) in räumlicher Nähe zur Methylgruppe in Position C-16, woraus sich ableiten lässt, dass die freie Drehbarkeit der Methylengruppe C-14 eingeschränkt ist. Das Methylenproton bei $\delta = 1,45$ ppm (H-1) zeigt durch die entsprechenden Kreuzsignale räumliche Nachbarschaft einerseits zu den Methylenprotonen an C-11, andererseits zu den Methylprotonen an C-20 und befindet sich somit in equatorialer Position.

Die Methylenprotonen an C-2 liegen gemeinsam unter einem Multiplett-Signal und können nicht verifiziert werden. Analoges gilt für die Methylenprotonen an C-11. Anders verhält es sich bei dem dazu benachbarten Methylenproton bei $\delta = 1,85$ ppm (H-12').

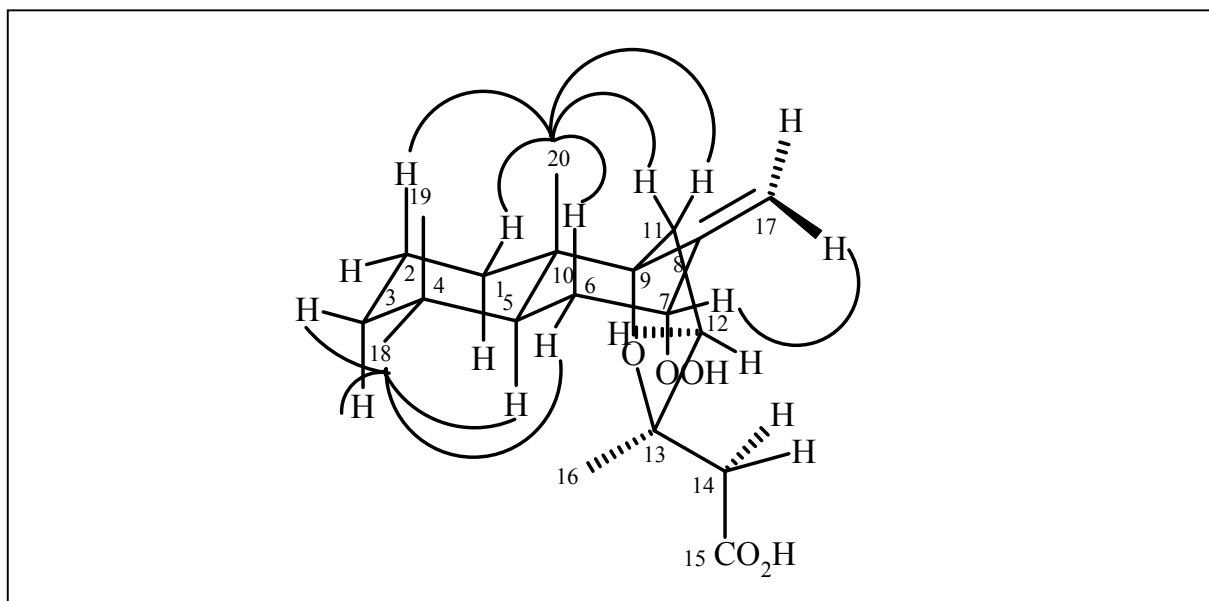


Abb. 45: rel. Stereochemie der Verbindung **1** und Protonen-Protonen-Raum-Korrelation abgeleitet aus dem ROESY-Spektrum (Abb. 20, S. 32)

Es befindet sich in räumlicher Nähe der Methylprotonen an C-16 und zeigt zusätzlich es ein schwächeres Signal zum olefinischen Proton an C-17, so daß man hier die beiden chemisch äquivalenten Protonen H-12 und H-12' räumlich unterscheiden kann.

Zur Aufklärung der Stereochemie der miteinander benachbarten Methylgruppen C-18 und C-19 wird die räumliche Nähe zum axialen Proton an C-5 (siehe Teilstruktur A, S. 33) untersucht. Es kann nur zu einer der beiden Methylgruppen, der equatorialen, ein Signal aufweisen. Die andere, axiale Methylgruppe (C-19), ist räumlich zu weit entfernt vom Methinproton H-5, so dass keine dipolare Wechselwirkung auftritt, die zu einem entsprechenden Signal im ROESY-Diagramm führen würde. Ein gemeinsames Kopplungssignal mit diesem Proton existiert für die Methylgruppe C-18, welche folglich equatorial angeordnet ist (siehe Abb. 45). Die Methylgruppe C-18 zeigt ebenfalls räumliche Nähe zu dem Methylenproton bei $\delta = 1,20$ ppm (H-3'). Dieses muß axial unterhalb der Papierebene liegen: das geminale Proton H-3 zeigt Signale zu beiden Methylgruppen (C-18 und C-19) und kann sich nur in äquatorialer Lage befinden, in welcher es zu beiden Methylgruppen gleichweit entfernt ist. Ob die beiden axialen und räumlich dicht beieinander liegenden Methylprotonen an C-19 und C-20 die entsprechenden Kreuzsignale im HH-Diagramm (Abb. 14, S. 26) aufweisen, ist aufgrund deren eng aneinander liegenden Verschiebungswerte nicht ersichtlich.

2.6.2.6.2 Herleitung der absoluten Konfiguration von Verbindung 1

L.A.Paquette et al. haben durch eine enantioselektive Synthese von (+)-Grindeliasäure, welche den entgegengesetzten Drehwert der natürlichen (-)-Grindeliasäure besitzt [36] bewiesen, dass die natürliche (-)-Grindeliasäure an den beiden Stereozentren C-5 und C-10 eine S-Konfiguration aufweist. Weiterhin postulieren sie die gleiche absolute Konfiguration aller Grindelan-Diterpen-Derivate von ihrer jeweiligen Ausgangssubstanz, nämlich (+)- oder (-)-Grindeliasäure. Bei Verbindung **1** handelt es sich um ein Diterpen-Derivat der Grindeliasäure natürlichen Ursprungs. In Anlehnung an die oben beschriebene These kann man von einer S-Konfiguration an den Stereozentren C-5 und C-10 ausgehen (Abb. 46).

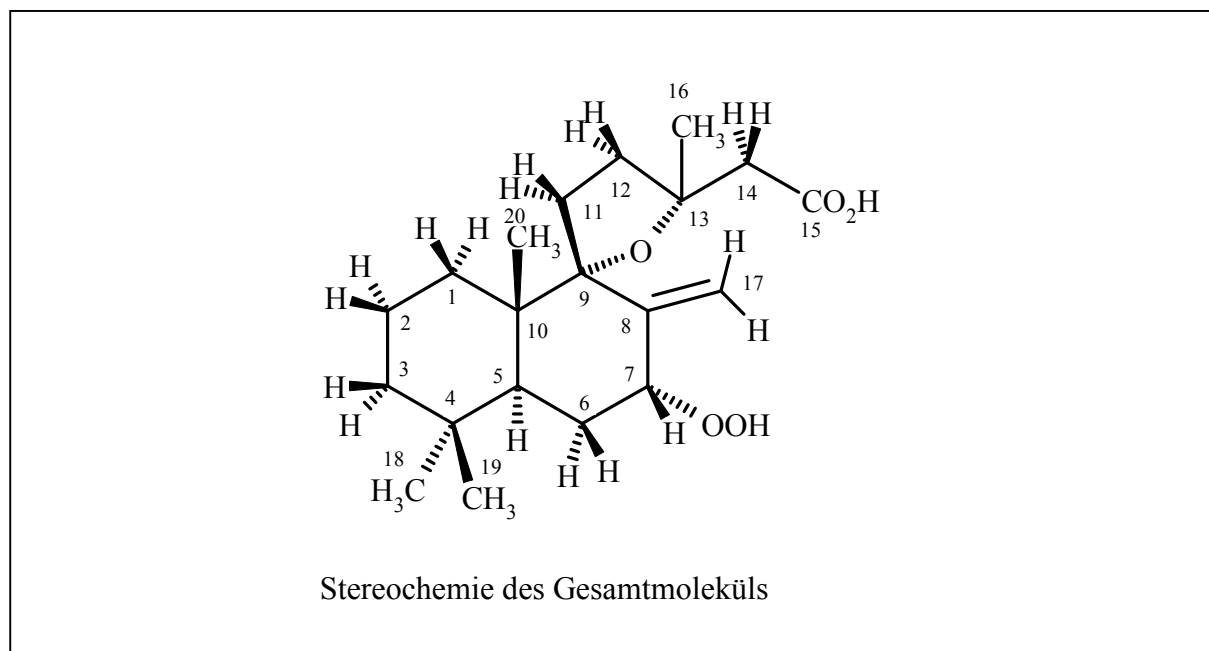


Abb. 46: Stereochemie des Gesamtmoleküls

Daraus ergibt sich für Verbindung **1**, dass sich das Proton H-5 unterhalb und die Methylgruppe C-20 oberhalb der Papierebene befindet. Durch Übertragung der relativen Konfiguration der übrigen Protonen zu H-5 und H-20 (Kap. 2.6.2.5.1) erhält man die **absolute Konfiguration** der Verbindung **1**, dargestellt in Abbildung 47:

C-5-Atom	S -Konfiguration
C-7-Atom	R -Konfiguration
C-9-Atom	R -Konfiguration
C-10-Atom	S -Konfiguration
C-13-Atom	S -Konfiguration

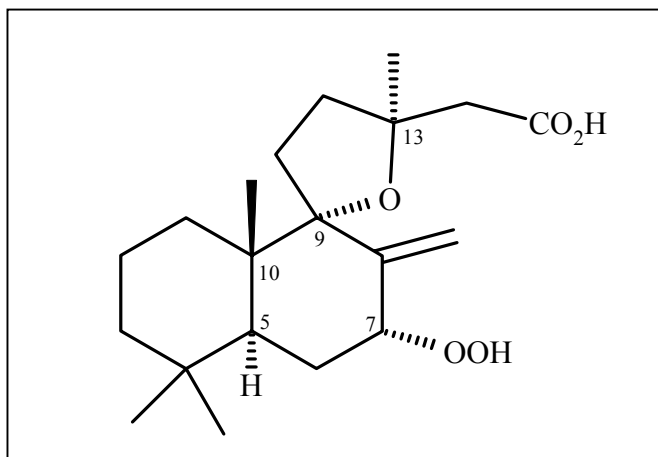


Abb. 47: Stereochemie an den Chiralitätszentren von Verbindung **1**

2.6.2.7 Zusammenfassung der NMR-Daten der Verbindung 1

Tabelle 11 ^{13}C - und ^1H -NMR-spektroskopische Daten der Verbindung 1 (125 MHz, CDCl_3)

Position	DEPT	$\delta^{13}\text{C}$ [ppm]	$\delta^1\text{H}$ [ppm]	M	J [Hz]
C-1	CH_2	31.8	1.45	d	$J = 10$
			1.60	m	-
C-2	CH_2	19.0	1.57	m	-
			1.52	m	-
C-3	CH_2	41.6	1.38	d	$J = 14$
			1.20	dt	$J = 5; J = 12.5$
C-4	C	33.4	-	-	-
C-5	CH	41.1	1.83	dd	$J_{5,6} = 2,5; J_{5,6'} = 14$
C-6	CH_2	26.2	2.17	ddd	$J_{5,6} = 2,5; J_{6,6'} = 15;$ $J_{6,7} = 2,5$
			1.55	m	-
C-7	CH	87.8	4.61	dd	$J_{6,7} = 2,5; J_{6',7} = 5$
C-8	C	143.9	-	-	-
C-9	C	92.0	-	-	-
C-10	C	41.5	-	-	-
C-11	CH_2	25.5	2.06	m	-
C-12	CH_2	38.6	1.93	m	-
			1.85	dt	$J = 5; J = 11.7$
C-13	C	81.5	-	-	-
C-14	CH_2	48.9	2.46	d	$J = 15$
			2.73	d	$J = 15$
C-15	C	172.5	-	-	-
C-16	CH_3	26.4	1.26	s	-
C-17	CH_2	117.1	5.15	s	-
			5.27	s	-
C-18	CH_3	33.3	0.90	s	-
C-19	CH_3	21.8	0.82	s	-
C-20	CH_3	17.0	0.79	s	-

Tabelle 12 Signifikante Korrelationen aus den HMQC- und HMBC-Experimenten
der Verbindung **1** (500/125 MHz, CDCl₃)

Position	$\delta^{13}\text{C}$ [ppm]	HMQC korreliert mit H ($^1J_{\text{CH}}$)	HMBC korreliert mit H ($^2J_{\text{CH}}$)	HMBC korreliert mit H ($^3J_{\text{CH}}$)
C-1	31.8	H-1/1'	H-2/2'	H-3; H-5; H-20
C-2	19.0	H-2/2'	H-1/1'; H-3'	-
C-3	41.6	H-3/3'	H-2/2'	H-1/1'; H-5; H-18; H-19
C-4	33.4	-	H-3/3'; H-5; H-18; H-19	H-2/2'; H-6/6'
C-5	41.1	H-5	H-6/6'	H-1; H-3; H-7; H-18; H-19, H-20
C-6	26.2	H-6/6'	H-5; H-7	-
C-7	87.8	H-7	H-6	H-5; H-17/17'
C-8	143.9	-	H-17/17'	H-6; H-11/11'
C-9	92.0	-	H-11/11'	H-5; H-7; H-17/17'; H-20
C-10	41.5	-	H-1/1'; H-5; H-20	H-2; H-6; H-11/11'
C-11	25.5	H-11/11'	-	H-12/12'
C-12	38.6	H-12/12'	H-11/11'	H-14/14'; H-16
C-13	81.5	-	H-12/12'; H- 14/14'; H-16	H-11/11'
C-14	48.9	H-14/14'	-	H-12/12'; H-16
C-15	172.5	-	H-14/14'	-
C-16	26.4	H-16	-	H-12; H-14/14'
C-17	117.1	H-17/17'	-	H-7
C-18	33.3	H-18	-	H-3/3'; H-5; H-19
C-19	21.8	H-19	-	H-3/3'; H-5; H-18
C-20	17.0	H-20	-	H-1/1'; H-5

Tabelle 13 HH-COSY- und HH-ROESY-Daten (500 MHz, CDCl₃) der Verbindung **1**

Proton	δ [ppm]	HH-COSY korreliert mit H ($^2J_{HH}$)	HH-COSY korreliert mit H ($^3J_{HH}$)	HH-COSY korreliert mit H ($^4J_{HH}$)	HH-ROESY steht in räumlicher Nähe zu Proton
H-1	1.45 d	H-1'	H-2/2'	H-3/3'	H-11/11', H-20
H-1'	1.60 m	H-1	H-2/2'	H-20	-
H-2	1.57 m	H-2'	H-1/1'; H-3/3'	-	H-19, H-20
H-2'	1.52 m	H-2	H-1/1'; H-3/3'	-	-
H-3	1.38 d	H-3'	H-2,2'	H-1	H-18, H-19
H-3'	1.20 dt	H-3;	H-2,2'	H-1; H-19	H-18
H-5	1.83 dd	-	H-6, H-6'	-	H-18
H-6	2.17 ddd	H-6'	H-5, H-7	-	H-18
H-6'	1.55 m	H-6	H-5, H-7	-	H-19, H-20
H-7	4.61 dd	-	H-6, H-6'	-	H-17'
H-11/11'	2.06 m	H-11/11'	H-12/12'	-	H-1, H-16, H-17, H-20
H-12	1.93 m	H-12'	H-11/11'	H-16	H-17
H-12'	1.85 dt	H-12	H-11/11'		H-16, H-17 (schwach)
H-14	2.46 d	H-14'	-	-	H-16
H-14'	2.73 d	H-14	-	H-16	-
H-16	1.26 s	-	-	H-12; H-14'	H-11/11', H-14
H-17	5.15 s	H-17'	-	-	H-11/11', H-12/12'
H-17'	5.27 s	H-17	-	-	H-7
H-18	0.90 s	-	-	H-19	H-3/3', H-5, H-6
H-19	0.82 s	-	-	H-3'; H-18	H-3
H-20	0.79 s	-	-	H-1'	H-1, H-11/11'

2.6.2.8 Vergleich der NMR-Daten von Verbindung 1 mit ähnlichen Strukturen

Eine Gegenüberstellung der NMR-Daten von Verbindung 1 mit denen der Methyl-7 α -hydroxy-7,8-dihydro-8(17)-dehydrogrindelasäure ist in Tabelle 14 (S. 61) aufgeführt. Da sich die strukturellen Unterschiede auf die Hydroperoxy- bzw. Hydroxygruppierung an C-7 und eine zusätzliche Esterfunktion beschränken, sind Variationen der ^1H - und ^{13}C -Verschiebungen von C-7 und den benachbarten Kohlenstoffatomen C-6, C-8 und C-11 zu erwarten.

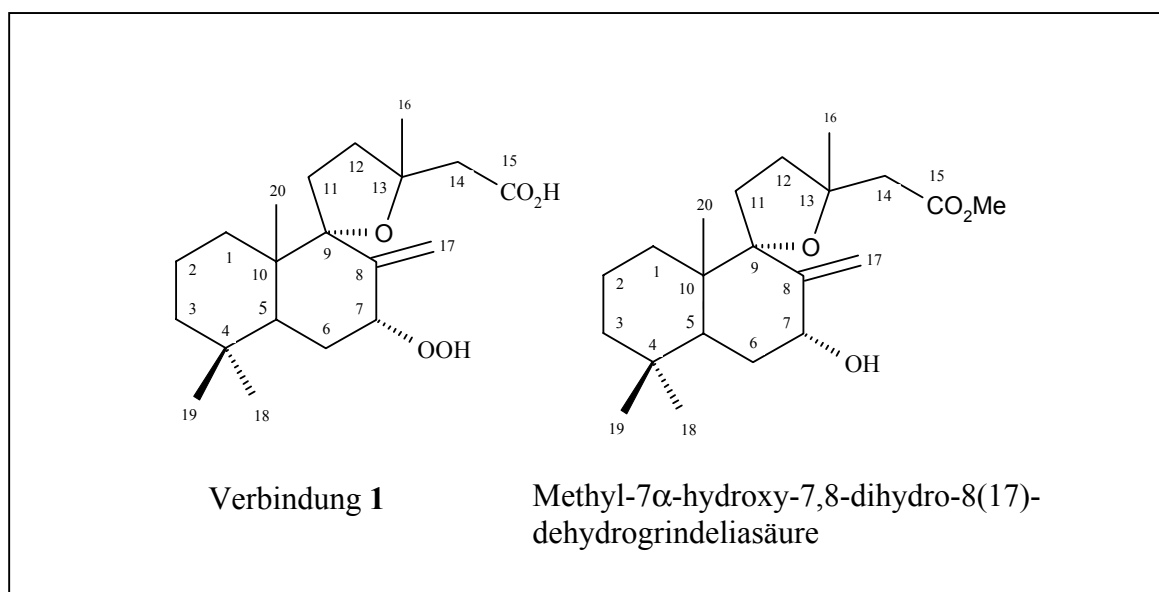


Abb. 48: Gegenüberstellung des analogen Alkohols mit dem Peroxid (= Verbindung 1)

Die Abweichung der ^{13}C -NMR-Verschiebungen von Verbindung 1 betragen im Vergleich mit Methyl-7 α -hydroxy-7,8-dihydro-8(17)-dehydrogrindelasäure (Tab. 14) weniger als 0.7 ppm (C-2, C-3, C-4, C-5, C-10, C-11, C-16, C-18, C-19, C-20). Die größeren Abweichungen an den Kohlenstoffatomen C-6, C-7, C-8, C-14, C-15, und C-17 sind sowohl anhand der unterschiedlichen Substitution an C-7 (Alkohol versus Peroxid) erklärbar, wie auch durch die Methylestergruppe (C-15), die sich bei den Verschiebungswerten der Kohlenstoffe C-14 und C-15 bemerkbar macht.

Die Verschiebung des δ_{C} -Wertes des Methinatoms C-7 ($\delta_{\text{C}} = 87.8$) in das tiefe Feld bestätigt die Position der Hydroperoxidfunktion. Die Peroxidfunktion beeinflusst im Vergleich zum Alkohol offenbar auch die δ_{C} -Werte benachbarter Kohlenstoffatome, wie dem quartären, olefinischen C-8-Atom, dessen olefinischen Bindungspartner C-17 und die benachbarte Methylengruppe C-6.

M. González Sierra [35] hat bereits die drei Verschiebungswerte in den Positionen C-7, C-8 und C-17 des Methylesters des Peroxids mit denen des Alkohols verglichen und auf die starken Unterschiede aufgrund eines zusätzlichen Sauerstoffatoms aufmerksam gemacht. Weitere Daten wurden nicht veröffentlicht.

Bei den ^1H -NMR-Verschiebungen (Tab. 14, S. 61) macht sich die unterschiedliche Substitution an C-7 durch die entsprechenden δ_{H} -Werte sowohl des Protons H-7 bemerkbar, welches beim Peroxid um 0.35 ppm zum tieferen Feld hin verschoben ist, als auch bei den geminalen olefinischen Protonen H-17/17', welche um 0.26 und 0.18 ppm zum tieferen Feld hin verschoben sind.

[35] M.González Sierra, M.I. Colombo, M.E. Zudenigo, E.A. Rúveda, *Phytochemistry* **1983**, 23, 1685-1688

Tabelle 14: Gegenüberstellung der ^{13}C - und ^1H -NMR-spektroskopischen Daten der Verbindung **1** (125/500 MHz, CDCl_3) mit Literaturangaben des Peroxids und dem korrespondierendem Alkohol

Position	δ_{C} [ppm] Verbindung 1	δ_{H} [ppm] Verbindung 1	δ_{C} [ppm] Alkohol [37] CDCl_3	δ_{H} [ppm] Alkohol [38] CDCl_3 / 400 MHz	δ_{C} [ppm] Peroxid [35] CDCl_3 / 20.15 Mhz	δ_{C} [ppm] Alkohol [35] CDCl_3 / 20.15 MHz
C-1	31.8	1.45 d	37.6			
		1.60 m				
C-2	19.0	1.57 m	19.1			
		1.52 m				
C-3	41.6	1.38 d	42.0			
		1.20 dt				
C-4	33.4	-	33.3			
C-5	41.1	1.83 dd	40.6			
C-6	26.2	2.17 ddd	32.2*	1.9 ddd		
		1.55 m				
C-7	87.8	4.61 dd	75.2	4.26 ddd	85.0	75.0
C-8	143.9	-	148.1		145.0	147.7
C-9	92.0	-	93.5			
C-10	41.5	-	42.1			
C-11	25.5	2.06 m	25.9			
		2.06 m				
C-12	38.6	1.93 m	32.0*	2.2-2.0 m		
		1.85 dt				
C-13	81.5	-	82.5			
C-14	48.9	2.46 d	46.7	2.59 br d		
		2.73 d		2.63 d		
C-15	172.5	-	171.4			
C-16	26.4	1.26 s	26.5	1.31 s		
C-17	117.1	5.15 s	111.1	4.89 br s	116.0	111.0
		5.27 s		5.09 br s		
C-18	33.3	0.90 s	33.4	0.91 s		
C-19	21.8	0.82 s	22.0	0.82 s		
C-20	17.0	0.79 s	16.8	0.74 s		
OMe	-	-	51.4	3.66 s		

[37] B.N.Timmermann, D.J. Luzbetak, J.J. Hoffmann, S.D. Jolad, K.H. Schram, R.B. Bates, R.E. Klenck, *Phytochemistry* **1983**, 22, 523-525

[38] F.Bohlmann, M. Ahmed, N. Borthakur, M. Wallmeyer, J. Jakupovic, R.M. King, H. Robinson, *Phytochemistry* **1982**, 21, 167-172

* austauschbar

2.6.3 Überlegungen zur Biosynthese bzw. Darstellung

Verbindung **1** lässt sich als mögliches Reaktionsprodukt einer Photooxidation (Abb. 49) der Grindeliasäure verstehen, die als Hauptinhaltsstoff von *Grindelia robusta* gilt. Analog einer En-Reaktion kann Singulett-Sauerstoff die isolierte 7,8-Doppelbindung der Grindeliasäure an beiden mit allylischem Wasserstoff versehenen Kohlenstoffatomen angreifen. Unter Umlagerung der Doppelbindung entstehen so die Reaktionsprodukte 3, 4, 5 und Verbindung **1**. Da sperrige Substituenten den Angriff von $^1\text{O}_2$ wirksam abschirmen [39], ist die Bildung von 3 und 4 vernachlässigbar klein und Verbindung **1** gegenüber 5 aufgrund raumbeanspruchender Methylgruppen an C-4 und C-10 bevorzugt.

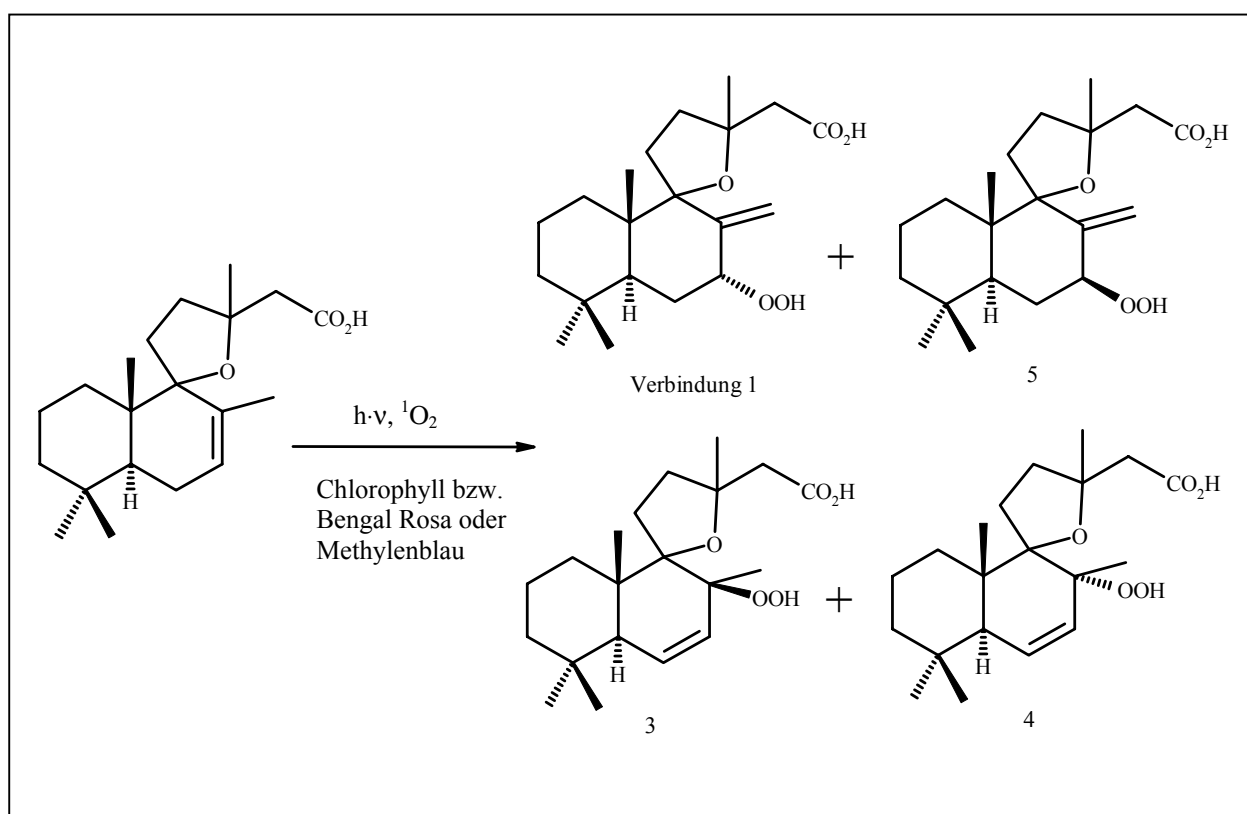


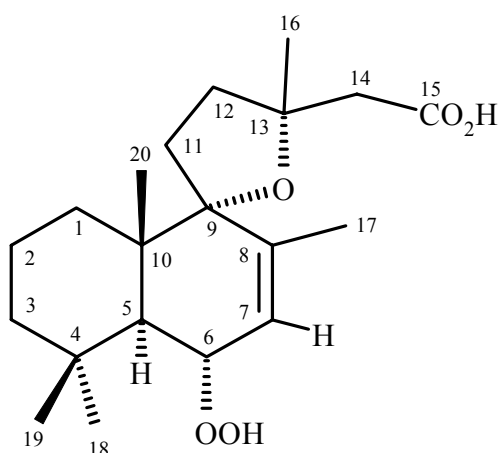
Abb. 49: Mögliche Biosynthese bzw. Synthese von Verbindung **1**

Der für eine En-Reaktion erforderliche Singulett-Sensibilisator steht in der Pflanze in Form von Chlorophyll zur Verfügung. Bei unseren Versuchen zur Darstellung von Verbindung **1** wurden die Farbstoffe Bengal Rosa und Methyleneblau als Sensibilisatoren eingesetzt. Grindeliasäure (Verbindung **3**, S. 118), das Edukt der "En"-Reaktion (Schenk-Reaktion [40]) konnte in ausreichender Menge aus *Grindelia robusta* isoliert werden.

[39] H.G.O. Becker, Einführung in die Photochemie **1983**, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York

[40] Günther von Büнау, Thomas Wolff, Photochemie - Grundlagen, Methoden, Anwendungen, **1987**, VCH Verlagsgesellschaft mbH

2.7 Verbindung 2 (6 α -Peroxygrindelasäure)



Verbindung **2** wurde nach Aufreinigung des Rohextraktes II (Abb. 6, S. 17) in Form eines weißen, kristallinen Niederschlages erhalten.

2.7.1 Ableitung der Summenformel

Das **FAB-Massenspektrum** (Abb. 50) zeigt das Quasi-Molekülion $[M+H]^+$ bei 353,2 m/z. Zusammen mit den anderen spektroskopischen Daten ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, 90° und 135° DEPT) lässt sich die Summenformel $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_5$ ableiten, die fünf Doppelbindungsäquivalente erwarten lässt. Ein weiteres Quasi-Molekülion bei 375,3 m/z $[M+\text{Na}]^+$ ist auf den Zusatz von Natriumacetat zur Probe zurückzuführen und beruht auf der Bildung eines Cluster-Ions, hervorgerufen durch Anlagerung von Natriumionen an die Probenmoleküle.

Fragmente bei 335,2 m/z $[M-\text{OH}]^+$ und 319,2 m/z $[M-\text{OOH}]^+$ charakterisieren eine Hydroperoxidgruppierung. Dies ist neben einer positiven Reaktion mit dem Peroxidsprühareagenz (S. 111) ein weiterer Hinweis auf das Vorliegen eines Peroxides.

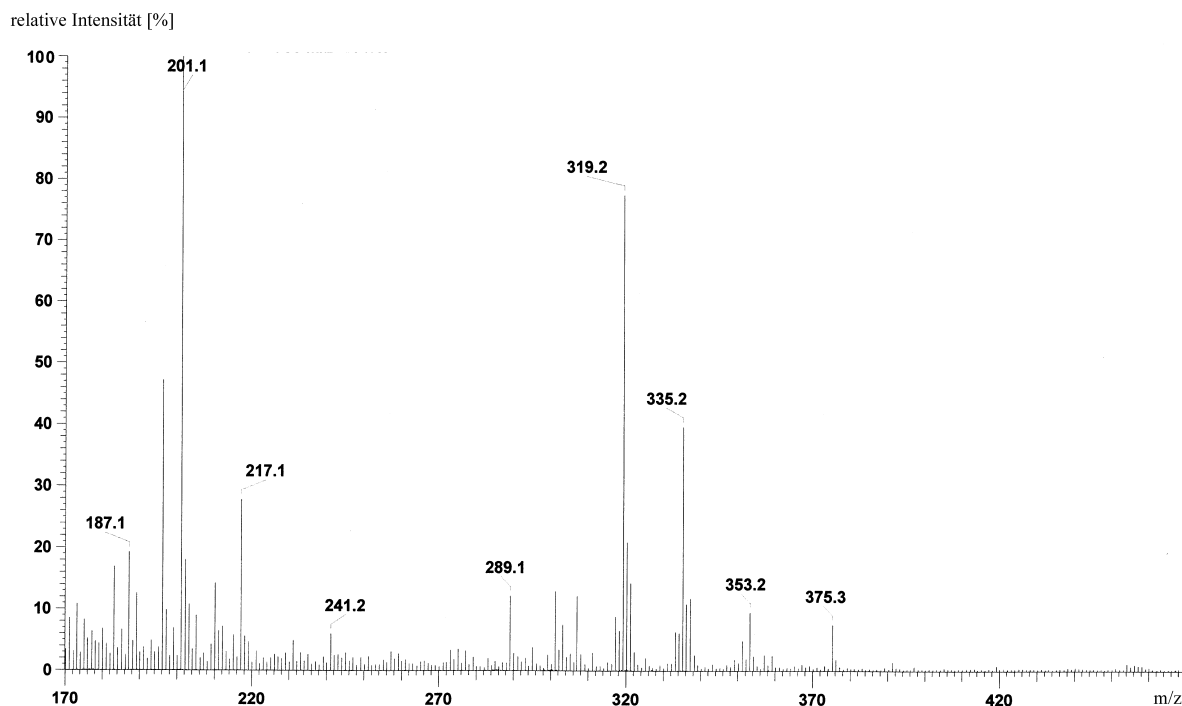


Abb. 50: FAB-Massenspektrum der Verbindung **2** (Matrix: mNBA/Natriumacetat)

2.7.2 Ableitung der Konstitution

Das **IR-Spektrum** der Verbindung **2** (Abb. 51, S. 65), aufgenommen als KBr-Pressling, zeigt eine stark verbreiterte OH-Valenzschwingung zwischen $3600\text{--}2500\text{ cm}^{-1}$ (m), die einer Carbonsäurefunktion zugeordnet werden kann ("Säurebauch"). Eine scharfe OH-Valenzschwingung bei 3300 cm^{-1} (m), könnte sowohl einer OH-Gruppe als auch einer Hydroperoxidfunktion zugewiesen werden. Die scharfe Bandenform zeigt an, dass eine OH- oder OOH-Gruppe zumindest teilweise frei und nicht assoziiert vorliegt. Für das Vorhandensein einer Hydroperoxidgruppe spricht die charakteristische O-O-Valenzschwingung bei 850 cm^{-1} (w) [33]. Die zugehörige C-O-Valenzschwingung befindet sich bei 1090 cm^{-1} (m). Weitere C-O-Valenzschwingungen sind bei 1010 und 980 cm^{-1} (m) zu erkennen. Im Einklang mit den auf eine Säurefunktion hinweisenden OH-Valenzschwingungen ist die intensive Bande bei 1690 cm^{-1} (s) der zugehörigen C=O-Valenzschwingung zuzuschreiben.

[33] W.Otting, Spektrale Zuordnungstafel der Infrarot-Absorptionsbanden **1963**, Springer Verlag Berlin Göttingen Heidelberg

Bei 2940 , 2910 cm^{-1} (s) und 2860 cm^{-1} (m) erkennt man die typischen Banden asymmetrischer und symmetrischer Valenzschwingungen gesättigter Kohlenwasserstoffe (Methyl-, Methylen- und Methingruppen). Die zugehörigen C-H-Deformationsschwingungen liegen bei 1450 cm^{-1} (m) und 1370 cm^{-1} (m).

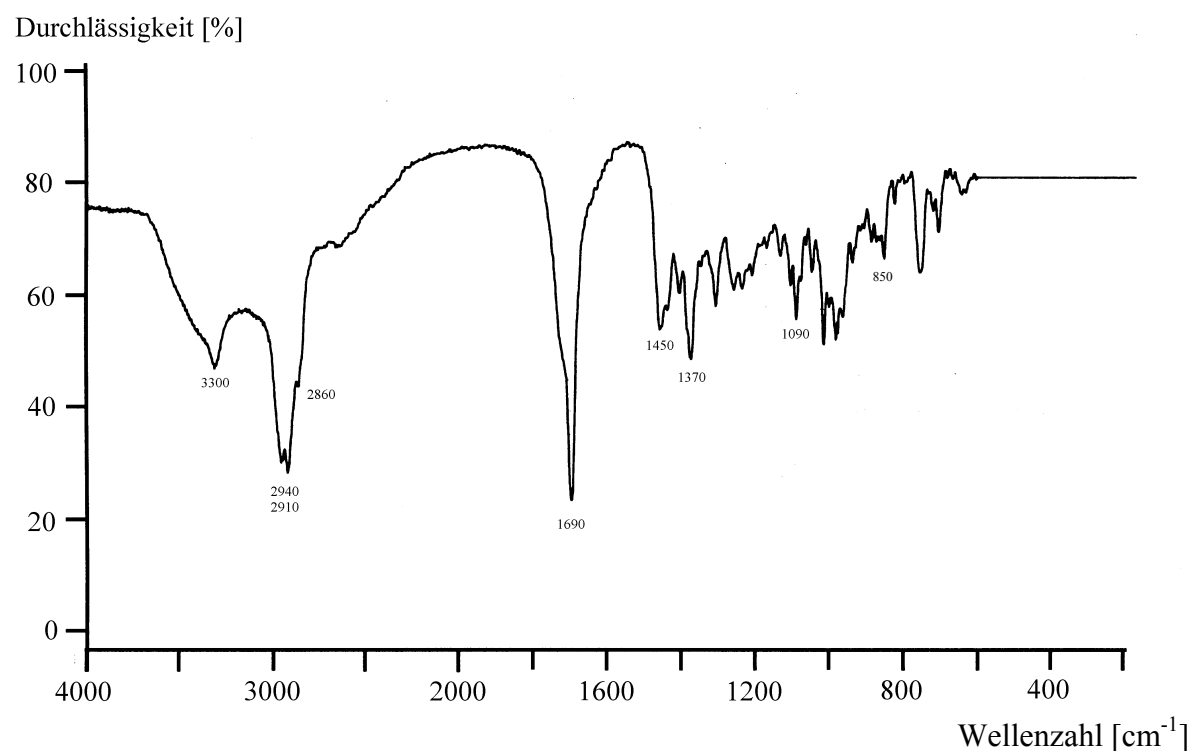


Abb. 51: IR-Spektrum der Verbindung **2** (KBr-Pressling)

2.7.2.1 NMR-Spektren der Verbindung 2

Neben den klassischen spektroskopischen Methoden wie Masse- und IR-Spektroskopie, die zur Charakterisierung der Summenformel und funktioneller Gruppen herangezogen werden, erfolgte die Ableitung der Konstitution mit ein- und zweidimensionalen NMR-Techniken.

Im folgenden sind die abgebildeten Spektren aufgelistet.

Abb. 52, S. 67: breitbandenkoppeltes ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung **2** (CDCl_3 , 125 MHz);

DEPT 90°-Experiment; DEPT 135°-Experiment

Abb. 53, S. 68: ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz)

Abb. 54, S. 69: Ausschnitte aus dem ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, 1.15-1.65 ppm; 1.75-2.25 ppm)

Abb. 55, S. 70: HH-COSY-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz)

Abb. 56, S. 71: Ausschnitt aus dem HH-COSY-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz, 0.7-2.8 ppm)

Abb. 57, S. 72: HMQC-Spektrum (CDCl_3 , 500/ 125 MHz)

Abb. 58, S. 73: Ausschnitt aus dem HMQC-Spektrum (CDCl_3 , 500/ 125 MHz, 0.6-2.9 ppm / 4-55 ppm)

Abb. 59, S. 74: HMBC-Spektrum (CDCl_3 , 500/ 125 MHz)

Abb. 60, S. 75: Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum (CDCl_3 , 500/ 125 MHz, 0.6-2.7 ppm / 15-180 ppm)

Abb. 61, S. 76: Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum (CDCl_3 , 500/ 125 MHz, 0.6-2.7 / 15-110 ppm)

Abb. 62, S. 77: HH-ROESY-Spektrum (CDCl_3 , 500 MHz)

Zusammenfassung der NMR-spektroskopischen Daten:

Siehe Kap. 2.7.2.7, S. 101 ff.

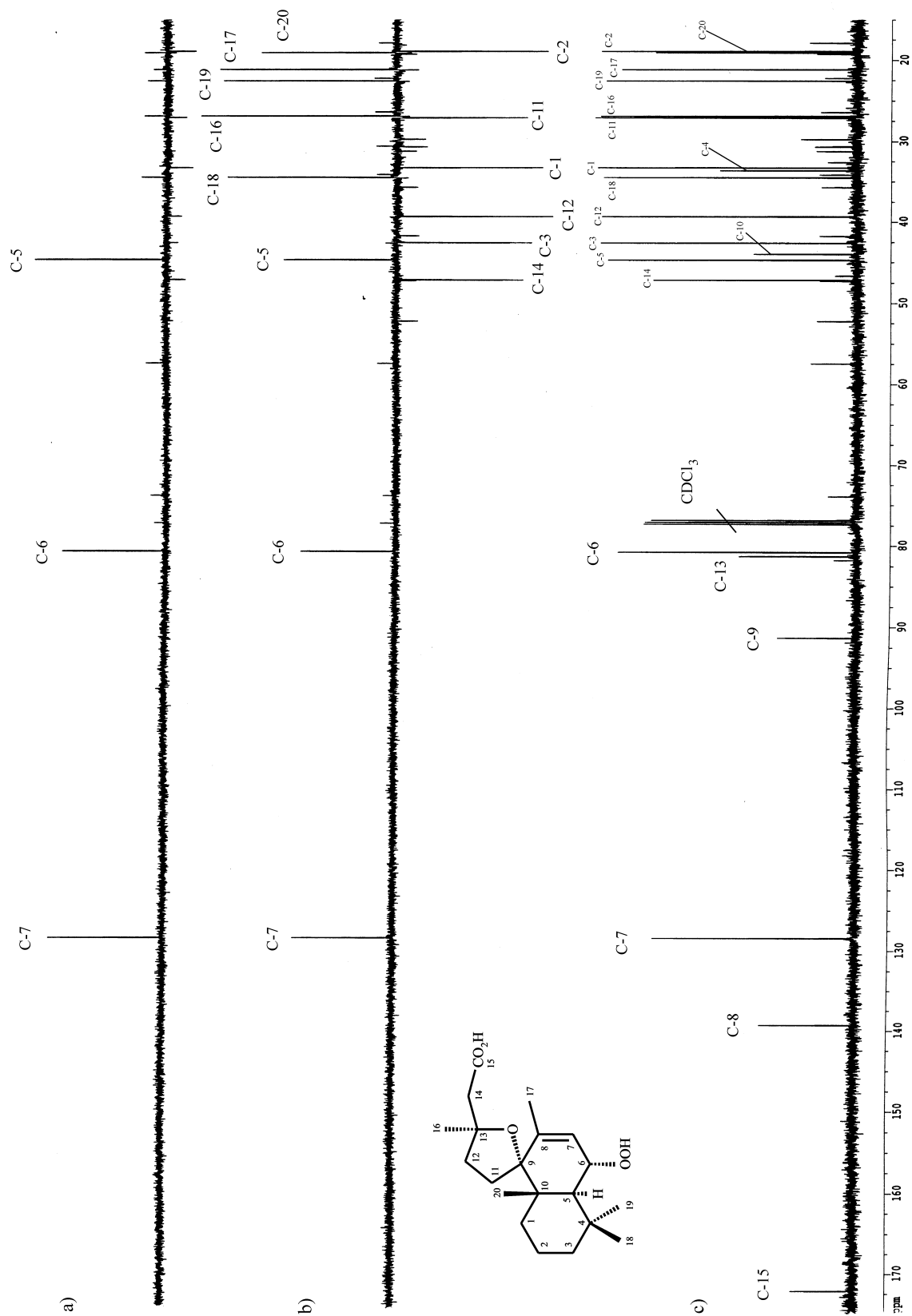


Abb. 52: ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung **2** (125 MHz, CDCl₃)

a) DEPT-Experiment mit $\theta = 90^\circ$, CH Subspektrum

b) DEPT-Experiment mit $\theta = 135^\circ$, CH und CH₃ mit positiven, CH₂ mit negativen Amplituden

c) protonenbreitbandentkoppelt

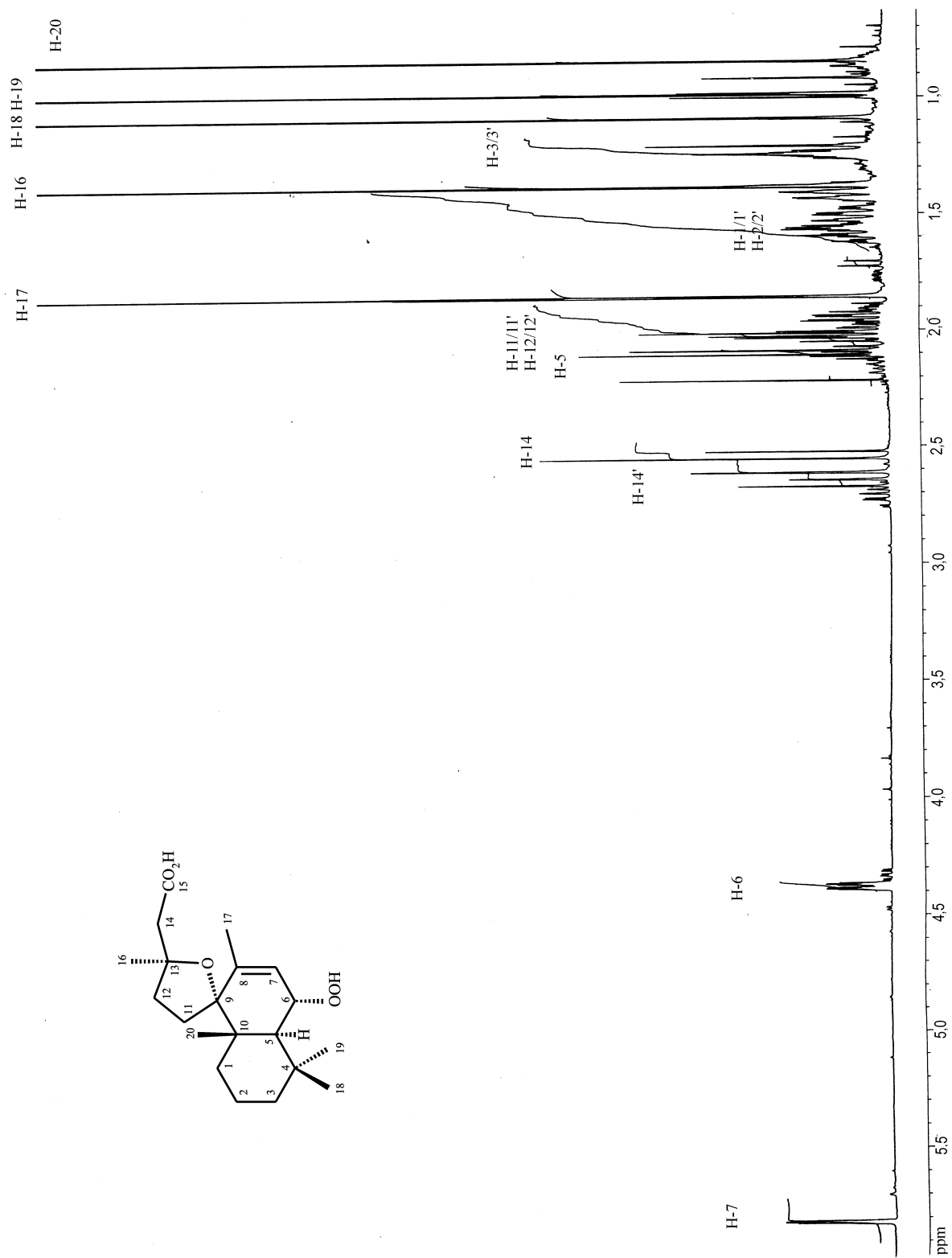


Abb. 53: ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung **2** (500 MHz, CDCl_3)

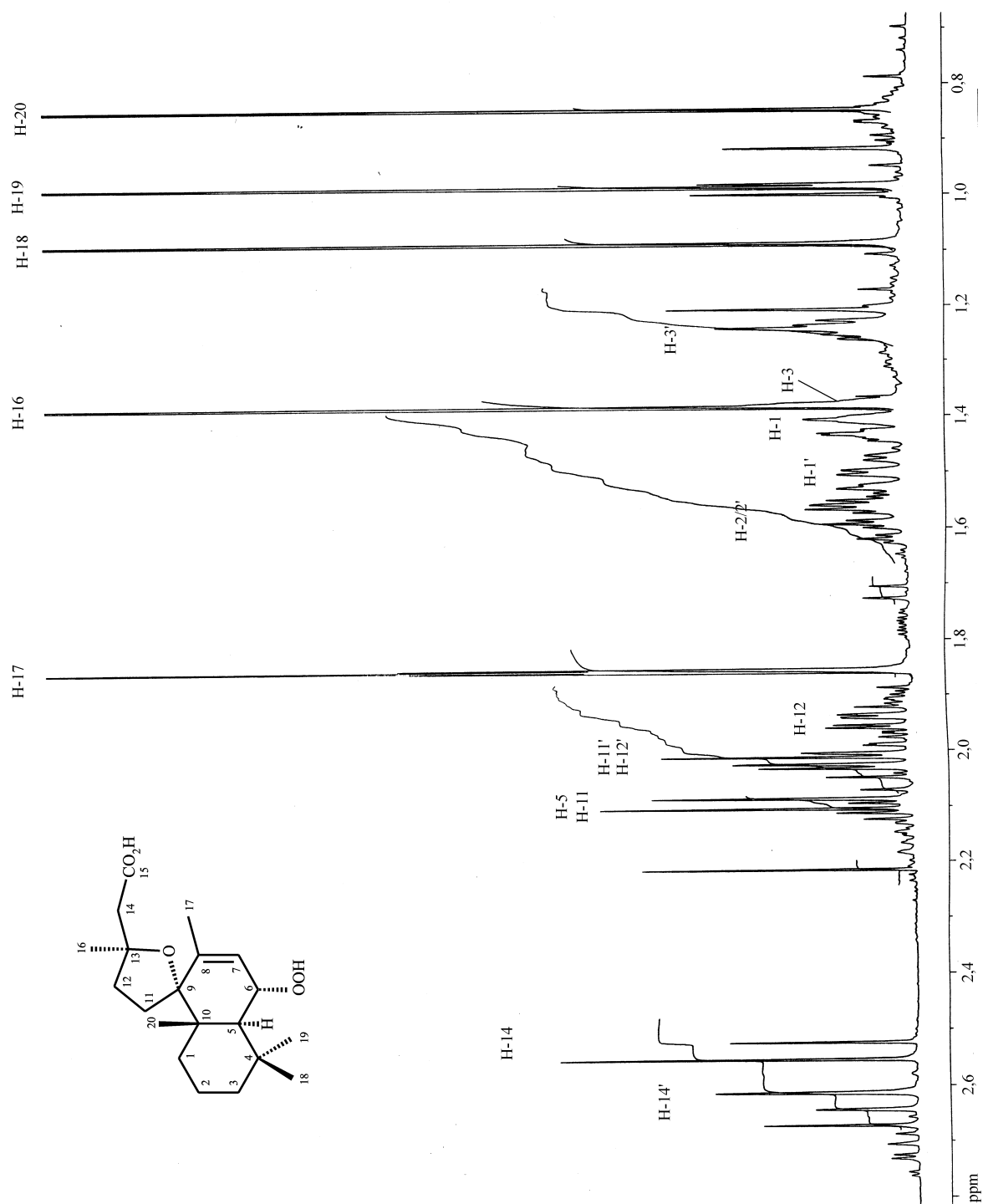
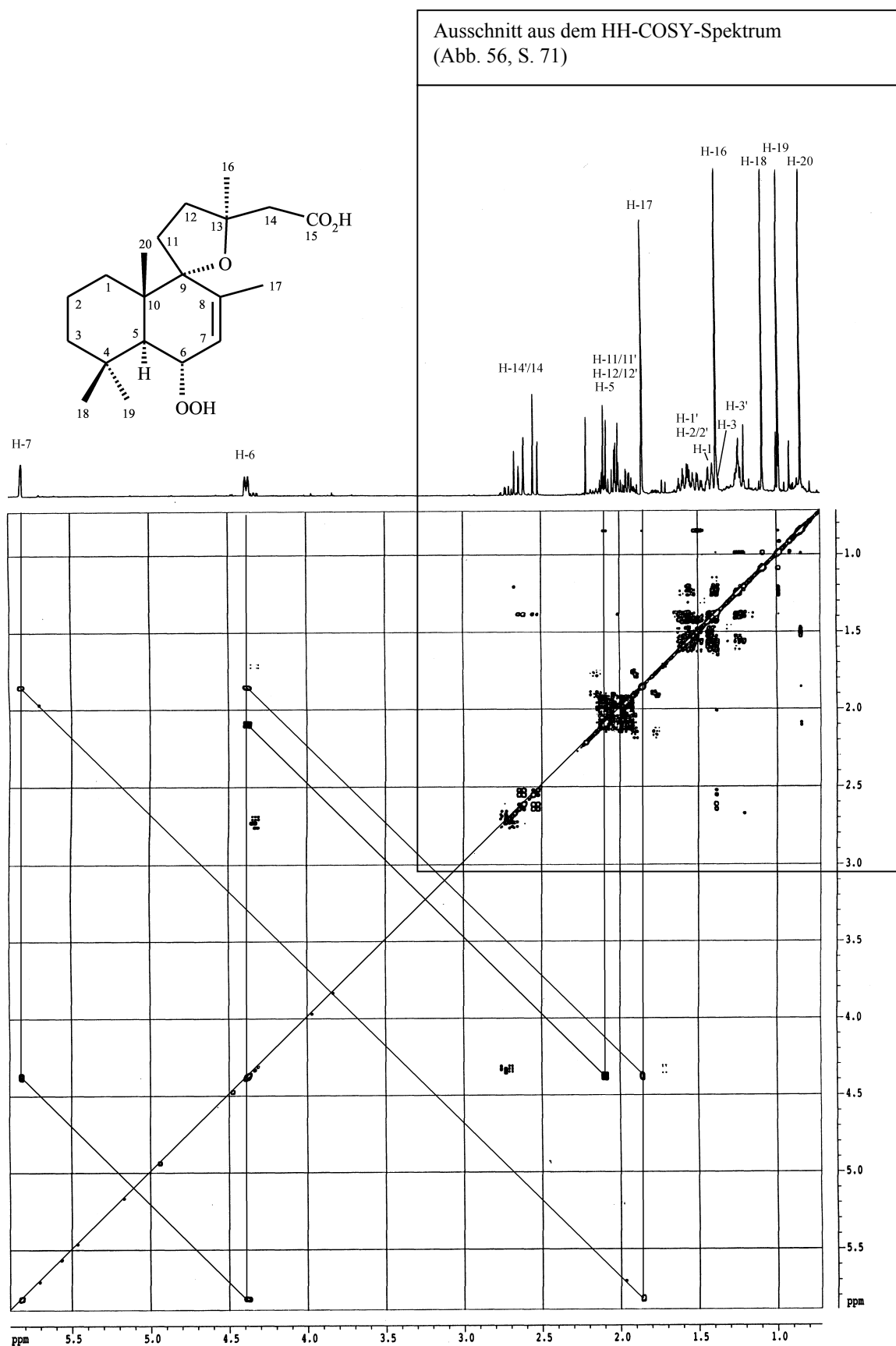
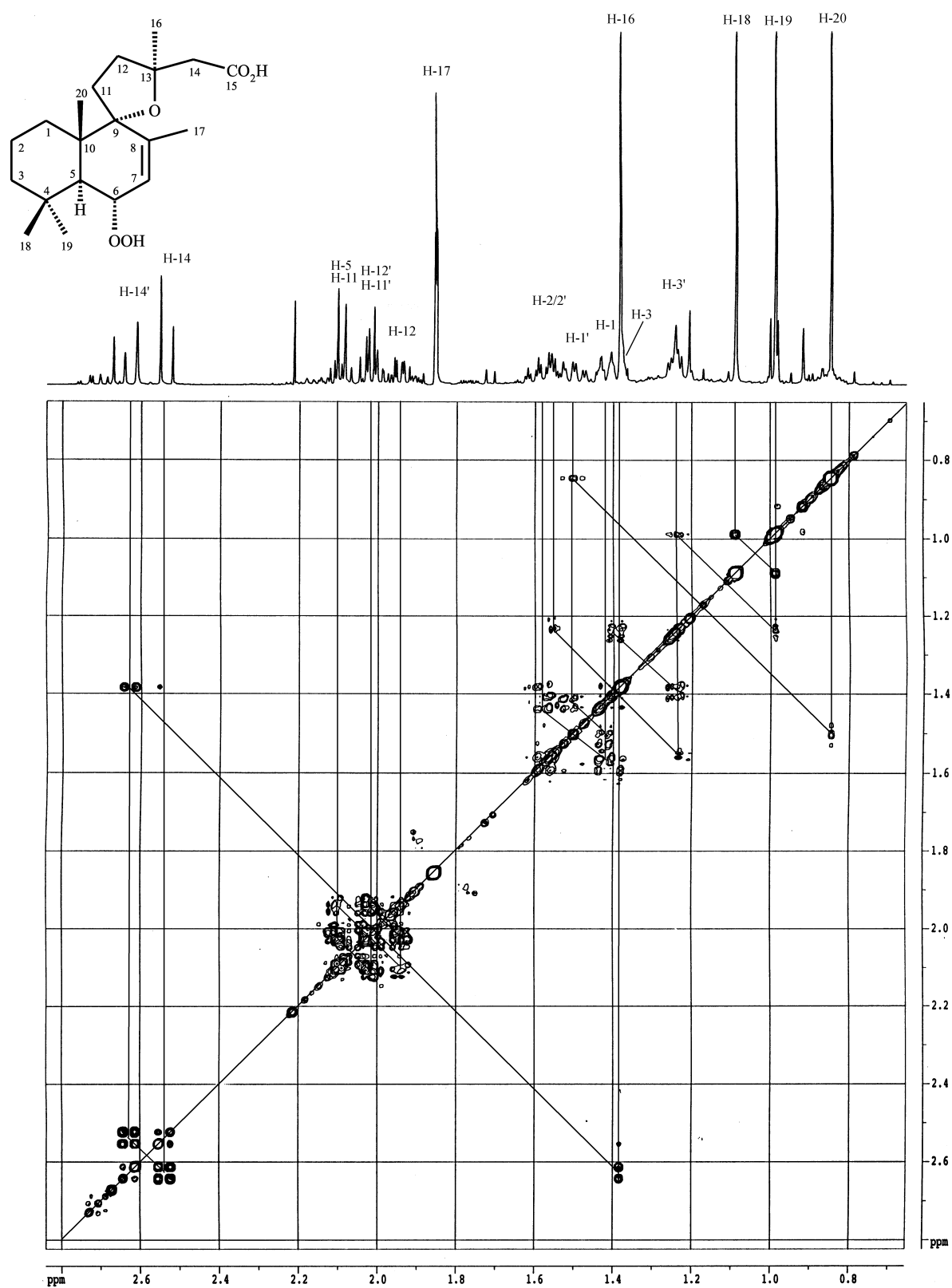
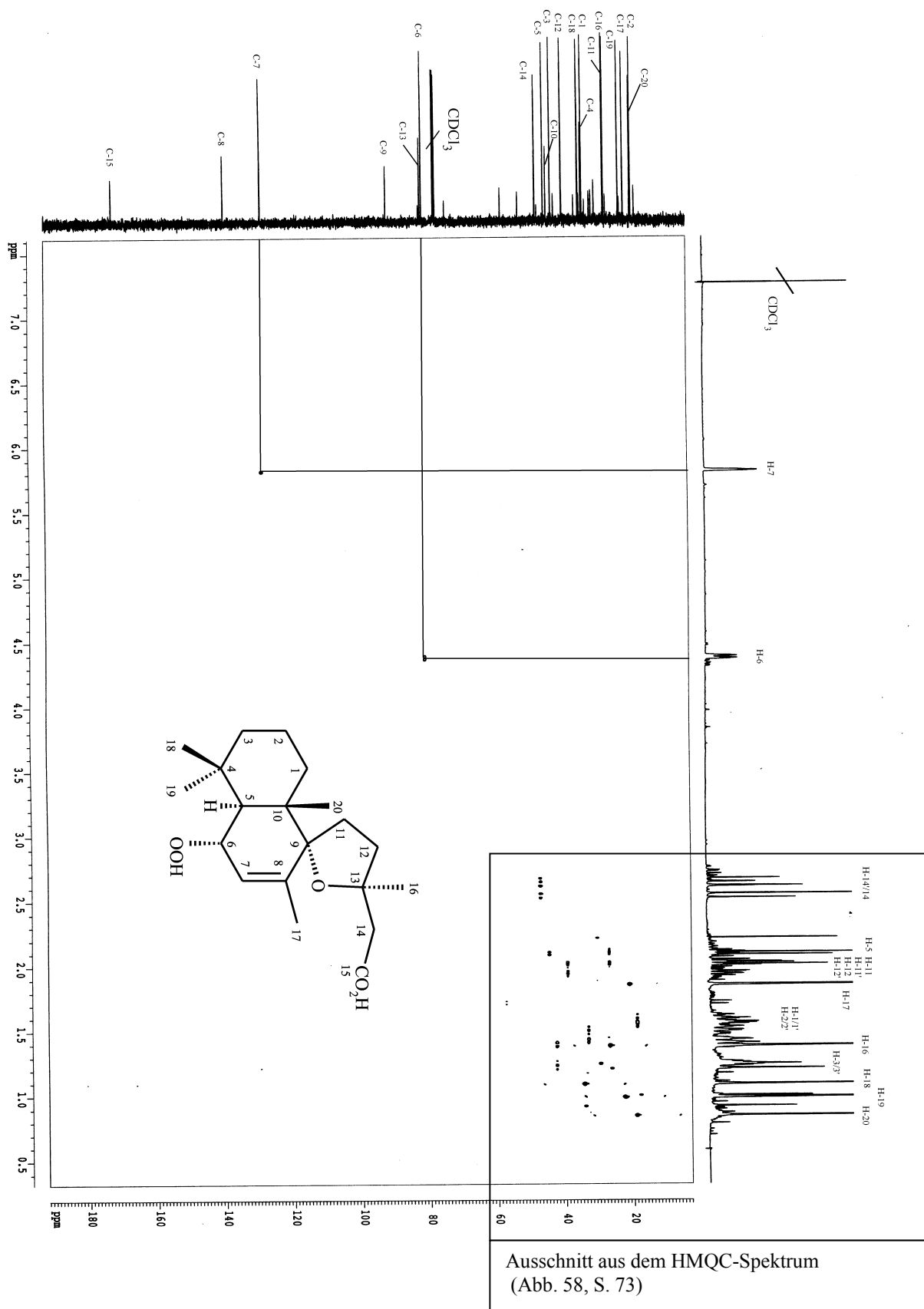
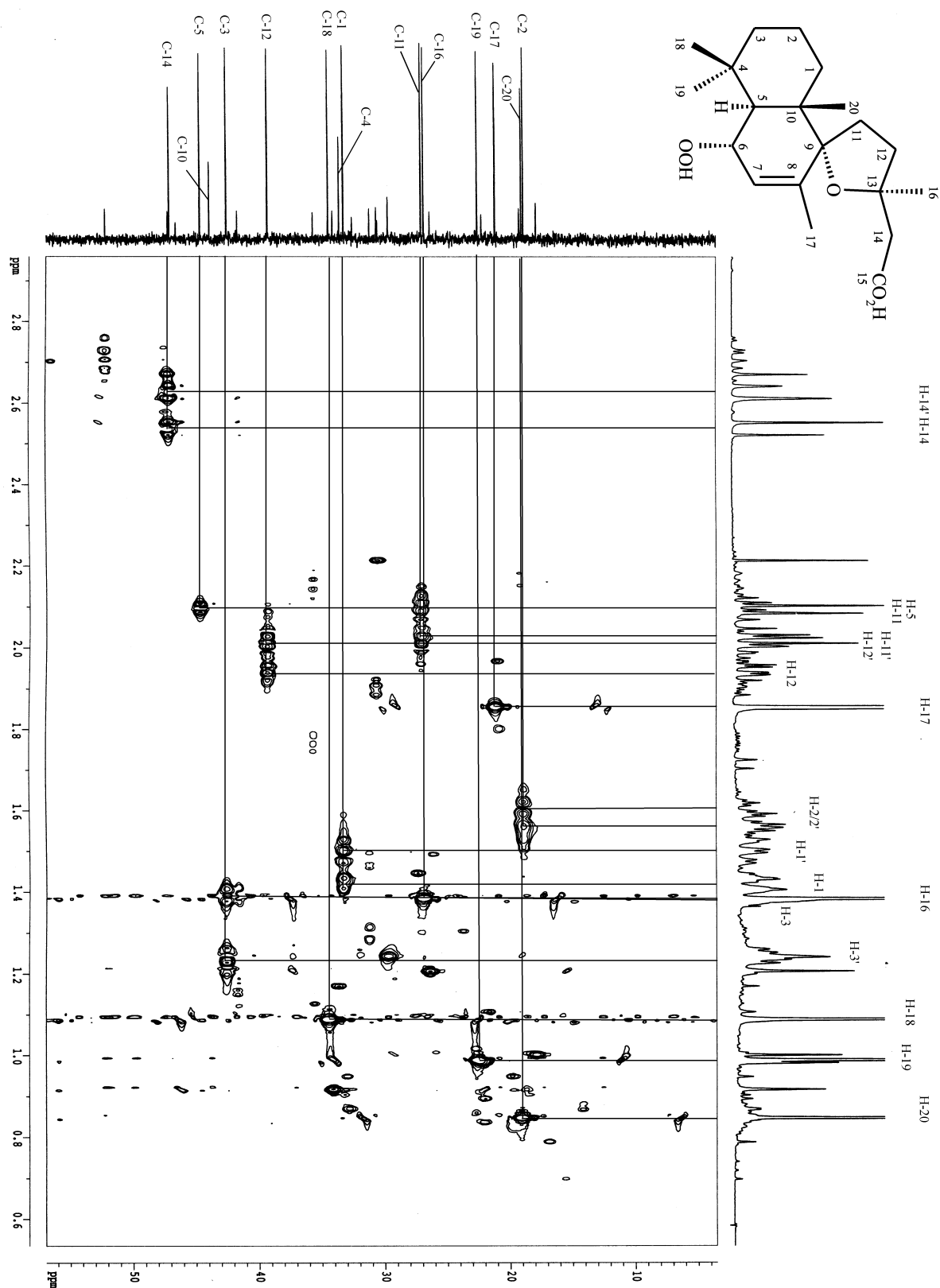


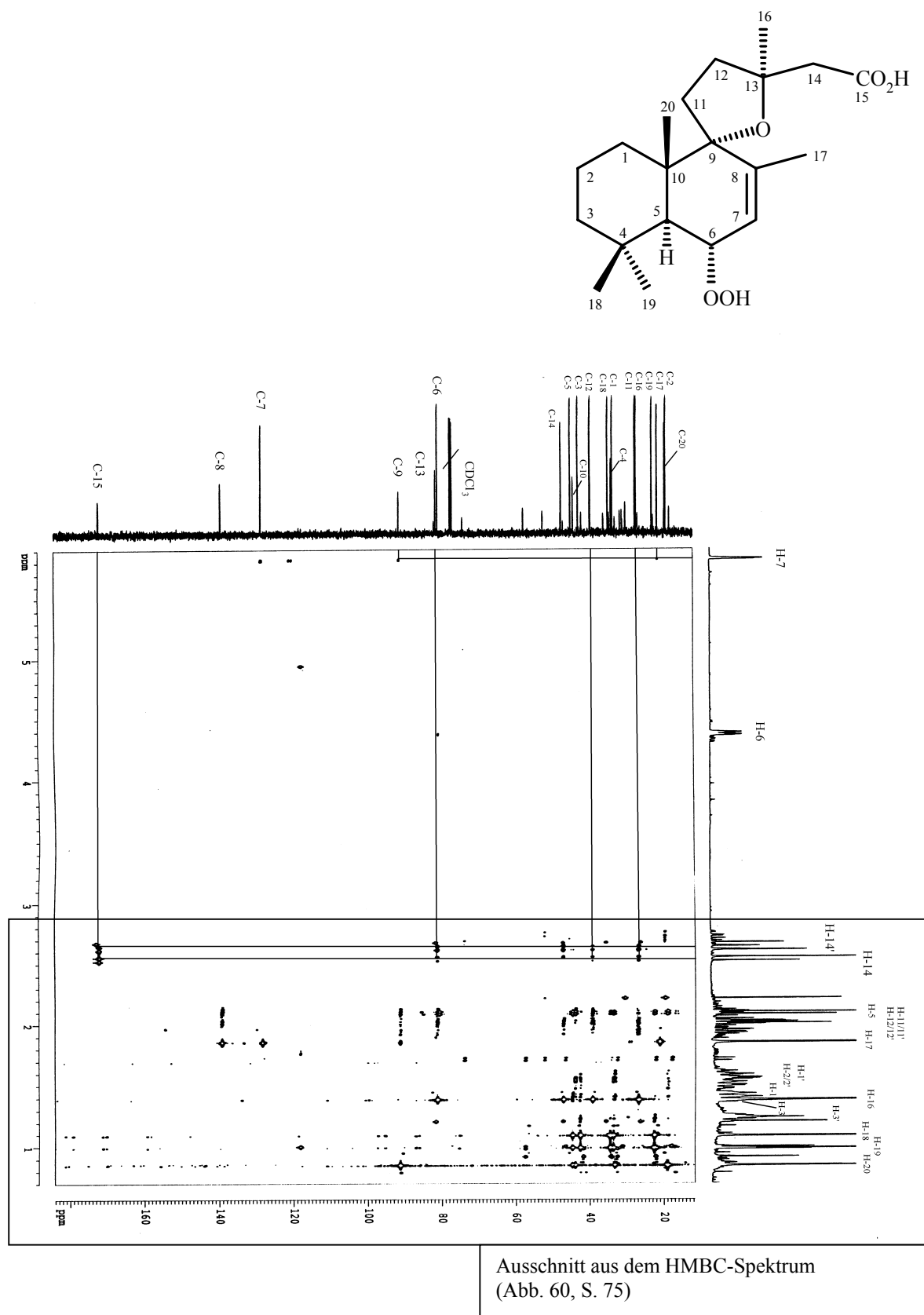
Abb. 54: Ausschnitt aus dem ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung **2** (500 MHz, CDCl_3)

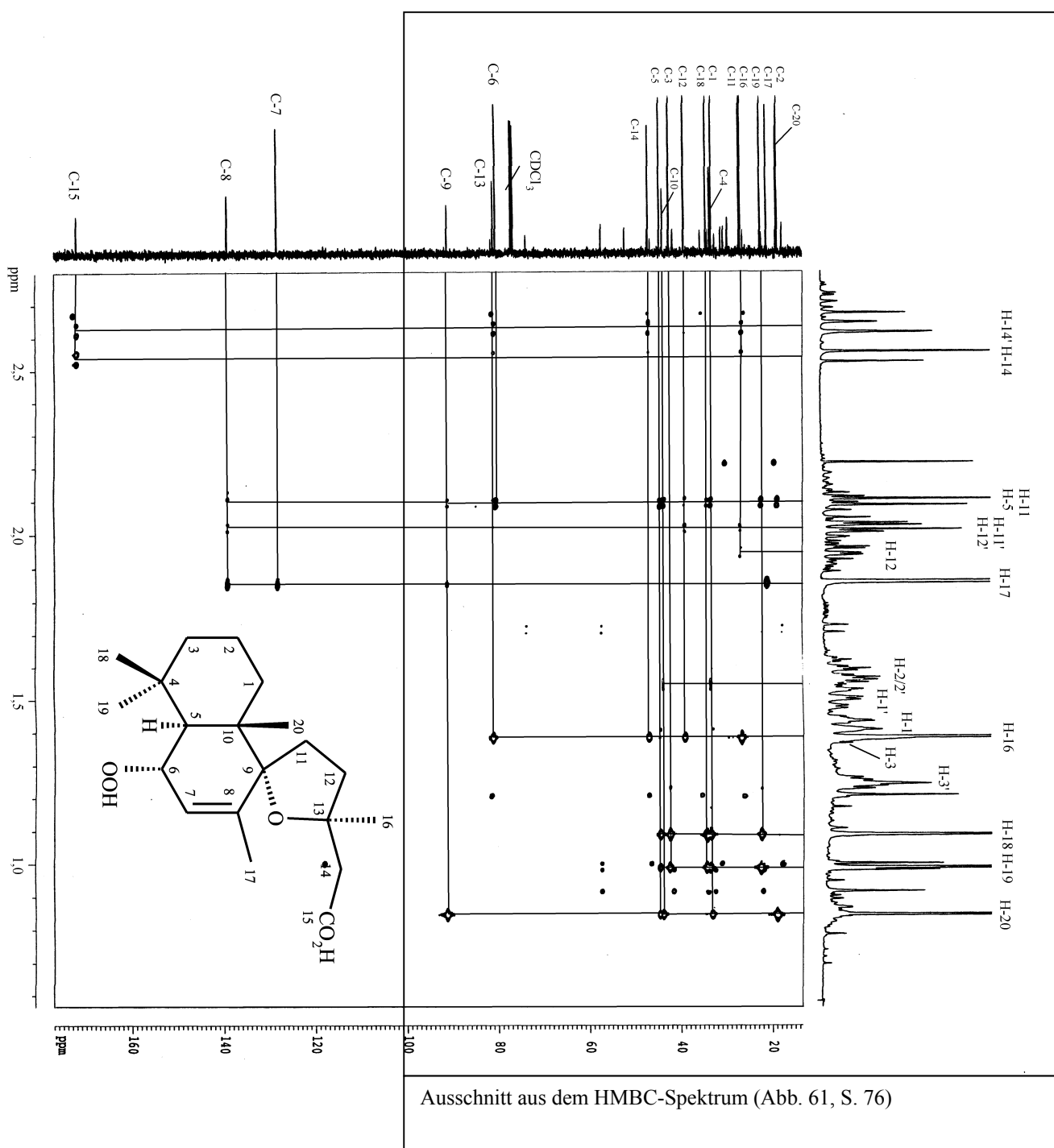
Abb. 55: HH-COSY-Spektrum der Verbindung 2 (500MHz/ CDCl₃)

Abb. 56: Ausschnitt aus dem HH-COSY-Spektrum der Verbindung **2** (500 MHz, CDCl₃)

Abb 57: HMQC-Spektrum der Verbindung **2** (500/125 MHz, CDCl₃)

Abb. 58: Ausschnitt aus dem HMQC-Spektrum der Verbindung **2** (500/125 MHz, CDCl_3)

Abb. 59: HMBC-Spektrum der Substanz **2** (500/125 MHz, CDCl₃)

Abb. 60: Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum der Substanz **2** (500/125 MHz, CDCl₃)

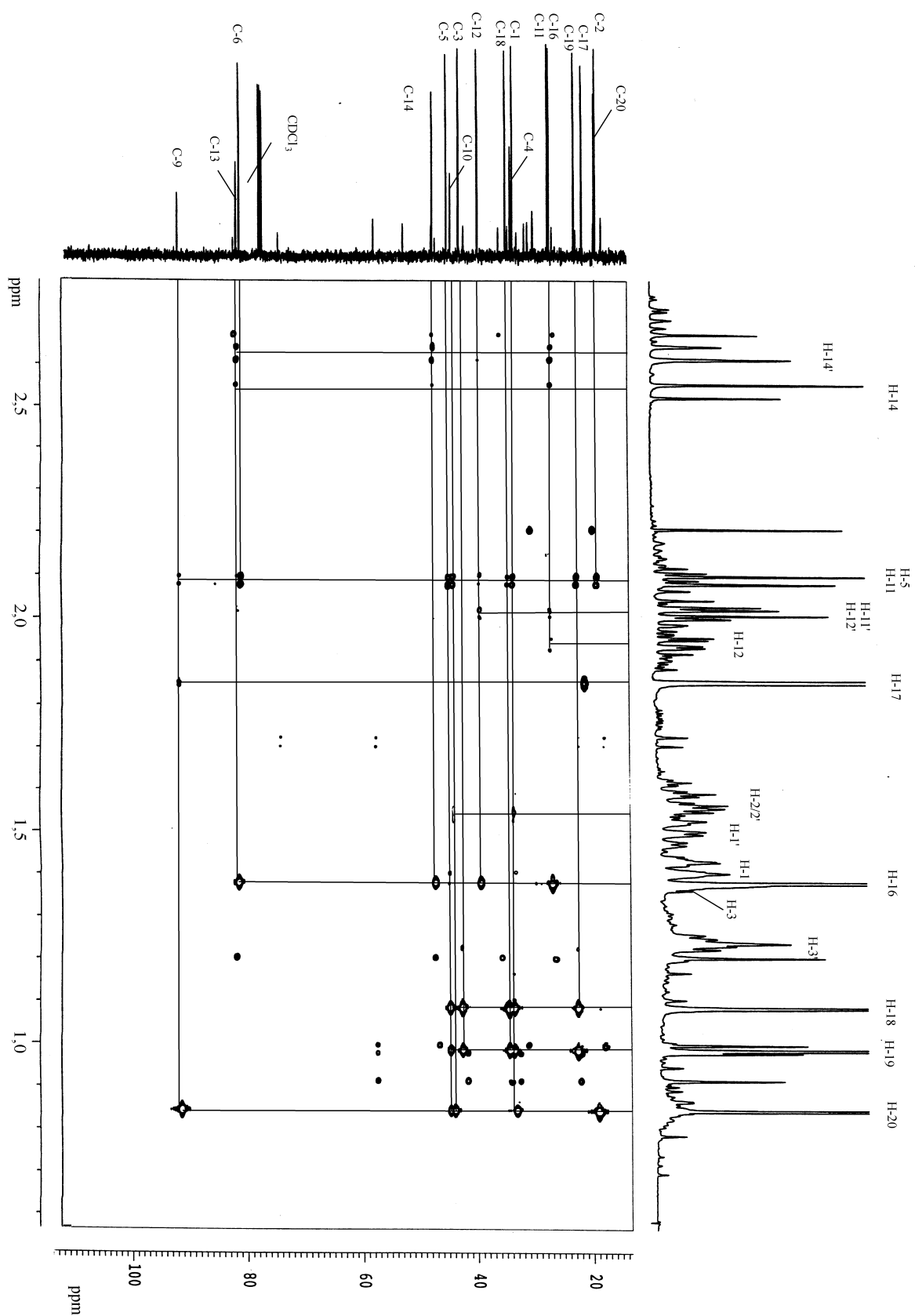
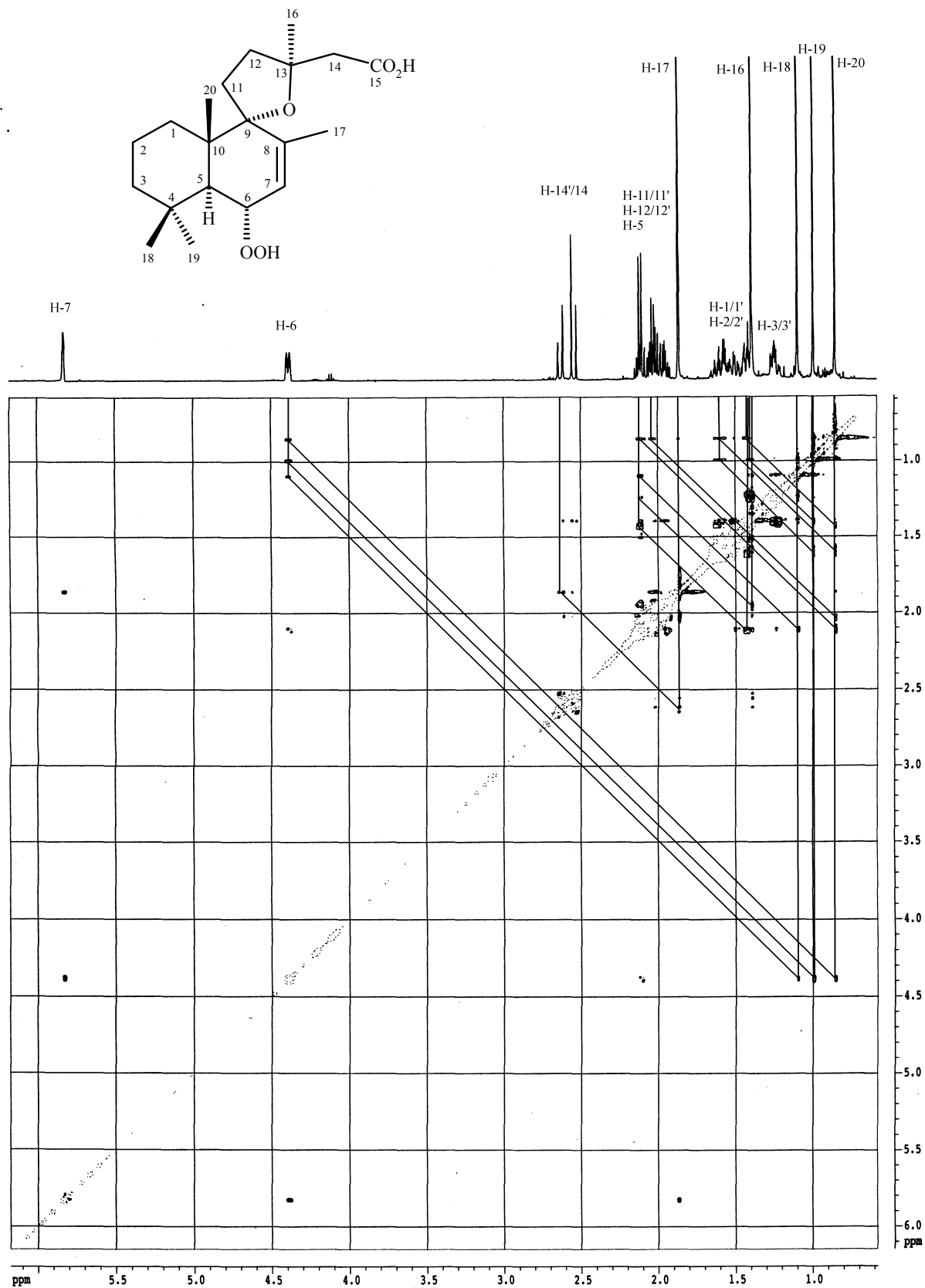
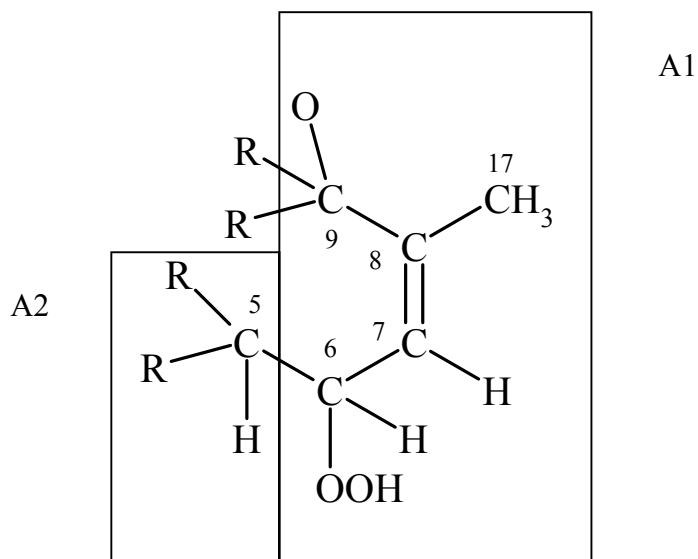


Abb. 61: HMBC-Spektrum der Substanz **2**, Teilausschnitt B (500/125 MHz, CDCl_3)

Abb. 62: HH-ROESY-Spektrum der Substanz **2** (500 MHz, CDCl₃)

2.7.2.2 Ableitung der Teilstruktur A



2.7.2.2.1 Ableitung der Teilstruktur A1

Aus dem ^1H -breitbandentkoppelten ^{13}C -NMR-Spektrum und dem 90° - bzw. 135° -DEPT-Experiment (Abb. 52, S. 67) lässt sich ableiten, dass Verbindung **2** neben einem Carbonyl- und zwei olefinischen Kohlenstoffatomen (C und CH) vier quartäre, zwei Methin-, sechs Methylen- und fünf Methyl-C-Atome aufweist. Bei einer Summenformel von $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_5$ entfallen somit zwei der fünf Doppelbindungsäquivalente auf eine Carbonylfunktion und eine Doppelbindung. Die verbleibenden drei Doppelbindungsäquivalente lassen einen Tricyclus erwarten.

Geht man bei der Strukturaufklärung der Verbindung **2** von den ^{13}C -Resonanzen einer trisubstituierten Doppelbindung bei $\delta_{\text{C}} = 139.3$ (C) und 128.4 (CH) sowie dem zugehörigen olefinischen Proton mit einer Resonanz bei $\delta_{\text{H}} = 5.82$ im ^1H -NMR-Spektrum (Abb. 53, S. 68) aus, kann zunächst die isoprenoide Teilstruktur A1 abgeleitet werden (Abb. 63).

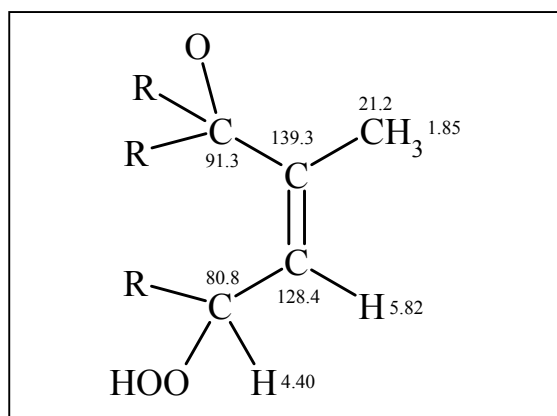


Abb. 63: Isoprenoide Teilstruktur A1 der Verbindung **2**

Das Kopplungsmuster eines Dubletts von Quartetts (Abb. 64), hervorgerufen durch das olefinische Proton mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}} = 5.82$, mit Kopplungskonstanten von $J=3.5$ Hz und $J=1.5$ Hz lässt auf eine Methingruppe in vicinaler Stellung und eine Methylgruppe in Allyl-Stellung schließen.

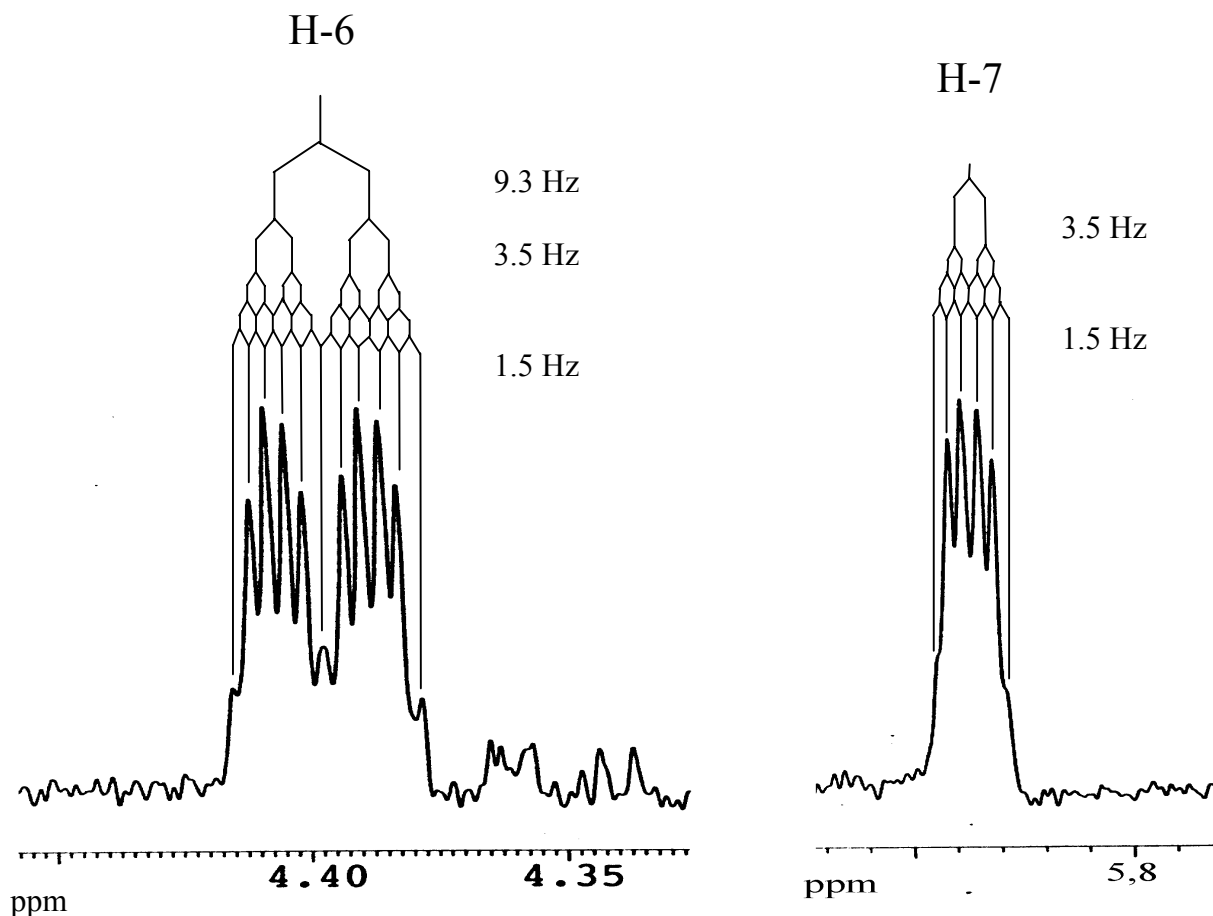


Abb. 64: Ausschnitt aus dem ¹H-NMR-Spektrum der Verbindung **2** (500 MHz, CDCl₃)

Nach den Kopplungskonstanten von 3.5 Hz und 1.5 Hz und den entsprechenden Korrelationssignalen im HH-COSY-Experiment (Abb. 55, S. 70) handelt es sich um die Methylgruppe mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}} = 1.85$ (ps, H-17) und um die Methingruppe mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}} = 4.40$ (ddq, H-6) (Abb. 64), deren relative Tieffeldverschiebung zusammen mit der des zugehörigen Kohlenstoffatoms ($\delta_{\text{C}} = 80.8$) auf die unmittelbare Nachbarschaft einer Hydroperoxidgruppe schließen lässt.

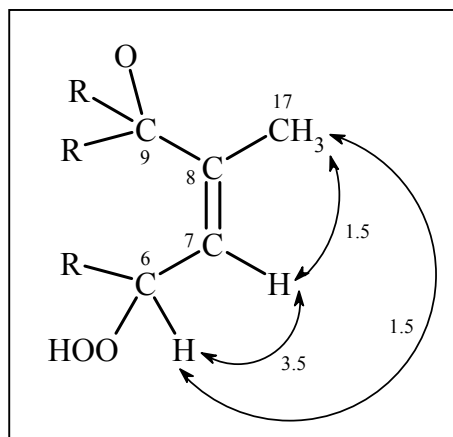


Abb. 65: HH-Korrelationen der isoprenoiden Teilstruktur A1 der Verbindung **2** entnommen aus dem HH-COSY-Spektrum (Abb. 55, S. 70)

Tabelle 15 ^1H -NMR- und HH-COSY-Daten der Teilstruktur A1 der Verbindung **2**

Position	δ [ppm]	J [Hz]	Korreliert mit H-Atom HH-COSY-Spektrum
H-6	4.40 ddq	9.3; 3.5; 1.5	H-5, H-7, H-17
H-7	5.82 dq	3.5; 1.5	H-6, H-17
H-17	1.85 dd	1.5; 1.5	H-6, H-7

Die Methylprotonen mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}} = 1.85$ zeigen im HMBC-Experiment (Abb. 60, S. 75) neben den Korrelationssignalen einer $^2\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung zu C-8 und einer $^3\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung zu C-7 ein weiteres Kopplungssignal einer $^3\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung zu einem quartären C-Atom mit Resonanz bei $\delta_{\text{C}} = 91.3$ (C-9), welches sich an die Doppelbindung anknüpft (Abb. 65, S. 80) und dessen Tieffeldverschiebung ebenfalls auf die direkte Nachbarschaft von Sauerstoff schließen lässt. Korrelationssignale ($^3\text{J}_{\text{CH}}$) des olefinischen Protons ($\delta_{\text{H}} = 5.82$) zu den Kohlenstoffatomen C-9 und C-17 (Abb. 59, S. 74) bestätigen die Verknüpfung von C-9, C-8, C-17 und C-7 miteinander.

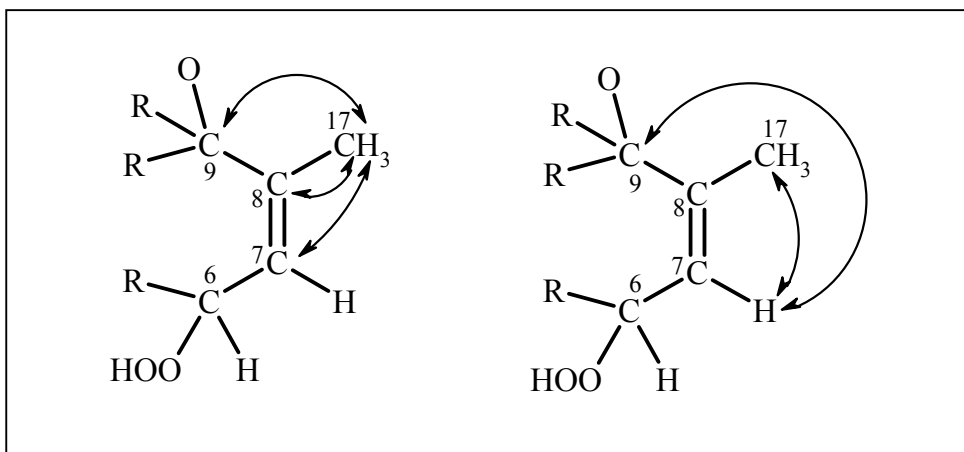


Abb. 66: CH-Korrelationen ($^2J_{CH}$, $^3J_{CH}$) der isoprenoiden Teilstruktur A1 der Verbindung **2** abgeleitet aus den HMQC- (Abb. 57, S. 72) und HMBC-Spektren (Abb. 59, S. 74)

Tabelle 16 CH-Korrelationen der Teilstruktur A1 der Verbindung **2**

C-Atom	δ [ppm]	korreliert mit H-Atom HMQC-Spektrum ($^1J_{CH}$)	H-Atom HMBC-Spektrum ($^2J_{CH}$)	H-Atom HMBC-Spektrum ($^3J_{CH}$)
C-6	80.8	H-6	-	-
C-7	128.4	H-7	-	H-17
C-8	139.3	-	H-17	-
C-9	91.3	-	-	H-7; H-17
C-17	21.2	H-17	-	H-7

2.7.2.2.2 Ableitung der Teilstruktur A2

Betrachtet man das Kopplungsmuster eines ddq der Methingruppe bei $\delta_H = 4.40$, so erkennt man neben der vicinalen 3.5 Hz-Kopplung zum olefinischen Proton H-7 und der homoallylischen 1.5 Hz-Kopplung zu H-17 eine weitere vicinale Kopplung von $J = 9.3$ Hz zum Dublett einer Methingruppe mit Resonanz bei $\delta_H = 2.09$ (H-5, Abb. 68, S. 82).

Die Größe der Kopplungskonstante von $J=9.3$ Hz lässt nach der Carplus-Konroy-Beziehung auf einen Interplanarwinkel von ca. 180° schließen (Abb. 67). Folglich stehen die vicinalen Protonen in anti-Stellung zueinander.

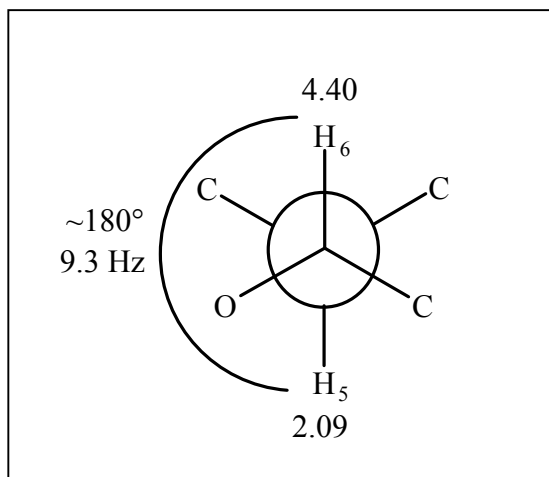


Abb. 67: Newman-Projektion der $^3J_{\text{HH}}$ -Korrelation der Methinprotonen (H-5, H-6) aus Teilstruktur A2 der Verbindung **2**

Fehlende weitere Kopplungen im ^1H -NMR-Spektrum bzw. fehlende Korrelationssignale im HH-COSY-Diagramm lassen für die Methingruppe mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}} = 2.09$ auf die unmittelbare Nachbarschaft quartärer C-Atome schließen.

Hiermit kann Teilstruktur A1 zu Teilstruktur A2 durch Anknüpfen einer Methingruppe erweitert werden (Abb. 68).

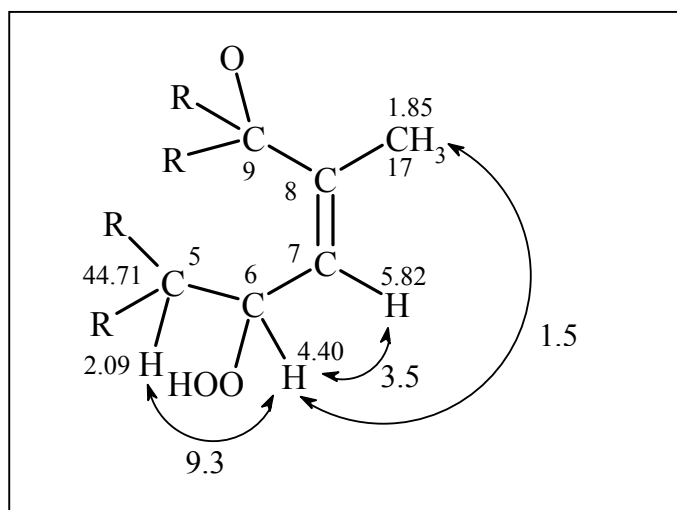
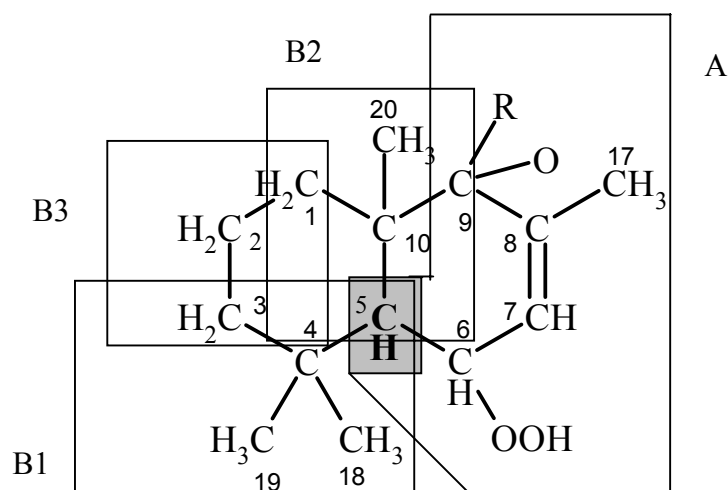


Abb. 68: Teilstruktur A2 der Verbindung **2** mit den Koplungspartnern der Methingruppe bei $\delta_{\text{H}} = 4.40$, entnommen aus dem HH-COSY-Spektrum (Abb. 55, S. 70)

2.7.2.3 Ableitung der Teilstruktur B



„Angelpunkt“ bildet die in Teilstruktur A schon diskutierte Methingruppe C-5 (grau unterlegt). Hieran lassen sich die beiden Untereinheiten B1 und B2 anknüpfen.

2.7.2.3.1 Ableitung der Teilstruktur B1

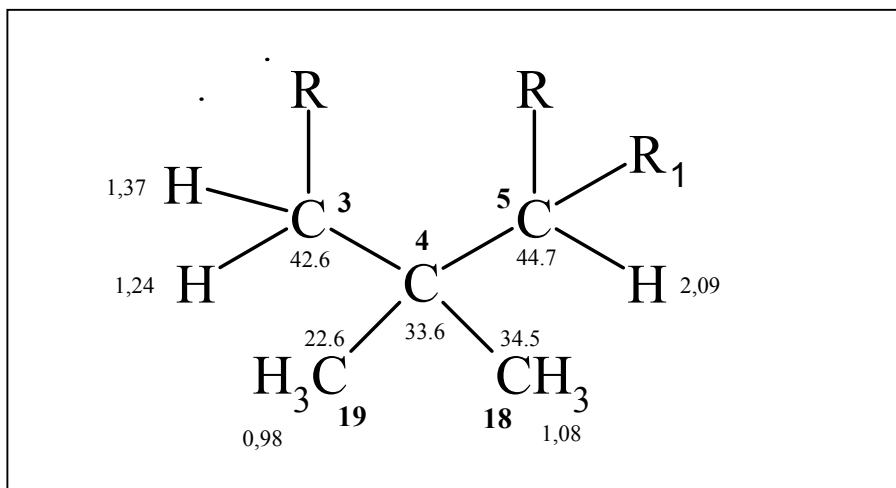


Abb. 69: Teilstruktur B1 der Verbindung **2** (R_1 = Teilstruktur A)

Ausgehend von C-5 ($\delta_{\text{C}}=44.7$) lässt sich Teilstruktur B1 anhand der entsprechenden Korrelationssignale des HMBC- und HMQC-Diagramms wie folgt ableiten: das HMBC-Spektrum (Abb. 61, S. 76) lässt für C-5 Kreuzsignale einer $^3\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung zu zwei Methylgruppen erkennen, die im $^1\text{H-NMR-Spektrum}$ bei $\delta_{\text{H}}=0.98$ (H-19) und $\delta_{\text{H}}=1.08$ (H-18) jeweils als Singulett in Resonanz treten (Abb. 54, S. 69). Im HMBC-Spektrum zeigen diese Methylgruppen ihrerseits sowohl die Korrelationssignale einer $^3\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung untereinander als auch jeweils die Signale einer $^2\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung zu einem quartären C-Atom (C-4) mit Resonanz bei $\delta_{\text{C}}=33.6$ (Abb. 61, S. 76), welches wiederum das Korrelationssignal einer $^2\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung zu dem Methinproton H-5 aufweist. C-5 ist demnach mit dem quartären Kohlenstoff C-4 verknüpft, das die geminale Dimethylgruppe trägt.

Die unmittelbare Nachbarschaft einer Methylengruppe (C-3) zum quartären C-4 wird durch die Korrelationssignale einer $^3\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung der geminalen Methylgruppen zu einem Proton mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}}=1.24$ (m, H-3') (Abb. 61, S. 76) belegt, das nach dem HH-COSY-Diagramm (Abb. 56, S. 71) Teil einer Methylengruppierung ist und dessen geminaler Kopplungspartner bei $\delta_{\text{H}}=1.37$ (m, H-3) ebenfalls als Multiplett in Resonanz tritt und größtenteils unter dem Singulettsignal des Protons H-16 verdeckt liegt.

Erwartungsgemäß zeigt auch das diesem Proton zugehörige C-Atom (C-3) deutliche $^3\text{J}_{\text{CH}}$ -Korrelationen zu den Signalen der beiden geminalen Methylgruppen (Abb. 61, S. 76).

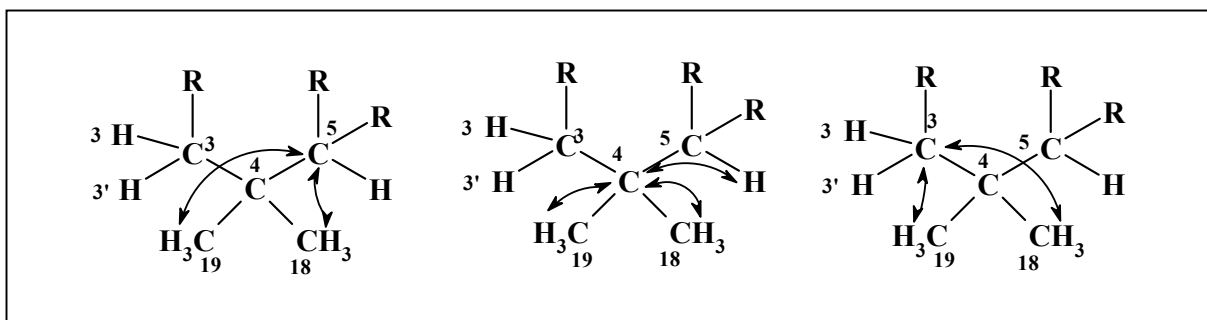


Abb. 70: CH-Korrelationen ($^2\text{J}_{\text{CH}}$, $^3\text{J}_{\text{CH}}$) der Teilstruktur B1 der Verbindung **2** abgeleitet aus den HMQC- (Abb. 58, S. 73) und HMBC-Spektren (Abb. 61, S. 76)

Tabelle 17 CH-Korrelationen der Teilstruktur B der Verbindung 2

C-Atom	δ [ppm]	korreliert mit H-Atom HMQC-Spektrum ($^1J_{CH}$)	H-Atom HMBC-Spektrum ($^2J_{CH}$)	H-Atom HMBC-Spektrum ($^3J_{CH}$)
C-3	42.6	H-3/ 3'	-	H-18; H-19
C-4	33.6	-	H-5, H-18, H-19	-
C-5	44.7	H-5	-	H-3; H-18; H-19
C-18	34.5	H-18	-	H-5; H-19
C-19	22.6	H-19	-	H-5; H-18

Dem HH-COSY-Diagramm (Abb. 56, S. 71) können die zugehörigen Korrelationen der Protonen untereinander entnommen werden: so zeigt das Methylenproton bei $\delta_H=1.24$ (H-3') neben der $^2J_{HH}$ -Korrelation zu dem geminalen Proton H-3 ebenfalls auch eine $^4J_{HH}$ -Korrelation zu der Methylgruppe bei $\delta_H=0.98$ (H-19). Weiterhin finden sich im HH-COSY-Diagramm die $^4J_{HH}$ -Korrelationssignale der Methylprotonen an C-18 und C-19 untereinander.

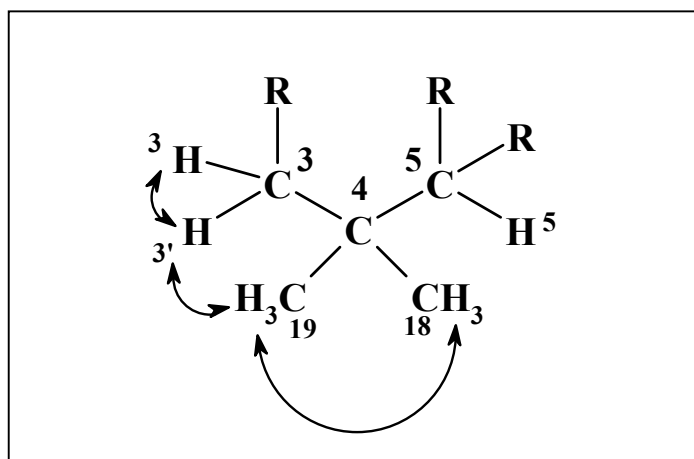


Abb 71: HH-Korrelationen der Teilstruktur B1 der Verbindung 2 abgeleitet aus dem HH-COSY-Spektrum (Abb. 56, S. 71)

Tabelle 18 ^1H -NMR- und HH-COSY-Daten der Teilstruktur B der Verbindung 2

Position	δ [ppm]	J [Hz]	HH-COSY
H-3	1.37 m	-	H-3'
H-3'	1.24 m	-	H-3, H-19
H-5	2.09 d	9.3	H-6
H-18	1.08 s	-	H-19
H-19	0.98 s	-	H-3', H-18

2.7.2.3.2 Ableitung der Teilstruktur B2

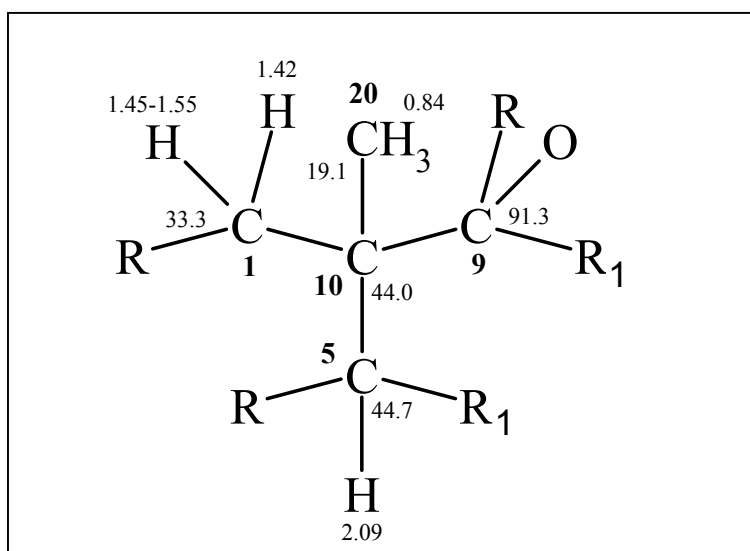


Abb. 72: Teilstruktur B2 der Verbindung 2 (R_1 = Teilstruktur A)

Teilstruktur B2 lässt sich anhand der CH- und HH-Kopplungen der Methingruppe C-5 mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}}=2.09$ (d, H-5) bzw. $\delta_{\text{C}}=44.7$ herleiten. Diese zeigt im HMBC-Spektrum (Abb. 61, S. 76) das Signal einer $^2J_{\text{CH}}$ -Kopplung zu dem quartären C-Atom bei $\delta_{\text{C}}=44.0$ (C-10) und steht folglich in dessen unmittelbarer Nachbarschaft, so dass C-10 an C-5 angeknüpft werden kann. Weiterhin lässt das Proton an C-5 im HMBC-Diagramm Signale einer $^3J_{\text{CH}}$ -Korrelation zu einer Methylengruppe mit Resonanz bei $\delta_{\text{C}}=33.3$ (C-1) erkennen, deren zugehörige Protonen nach dem HMQC-Diagramm (Abb. 58, S. 73) bei $\delta_{\text{H}}=1.42$ (d, H-1) und $\delta_{\text{H}}=1.45-1.55$ (m, H-1') in Resonanz treten.

Nach dem HH-COSY-Spektrum (Abb. 56, S. 71) zeigen diese Methylenprotonen das Signal einer $^4J_{HH}$ -Kopplung zu einer Methylgruppe mit Resonanz bei $\delta_H=0.84$ (s, H-20), deren zugehöriges Kohlenstoffatom bei $\delta_C=19.1$ (C-20) in Resonanz tritt. Darüberhinaus zeigt H-5 im HMBC-Experiment (Abb. 61, S. 76) die Korrelationssignale einer $^4J_{CH}$ -Kopplung mit einem quartären C-Atom mit Resonanz bei $\delta_C=91.3$ (C-9).

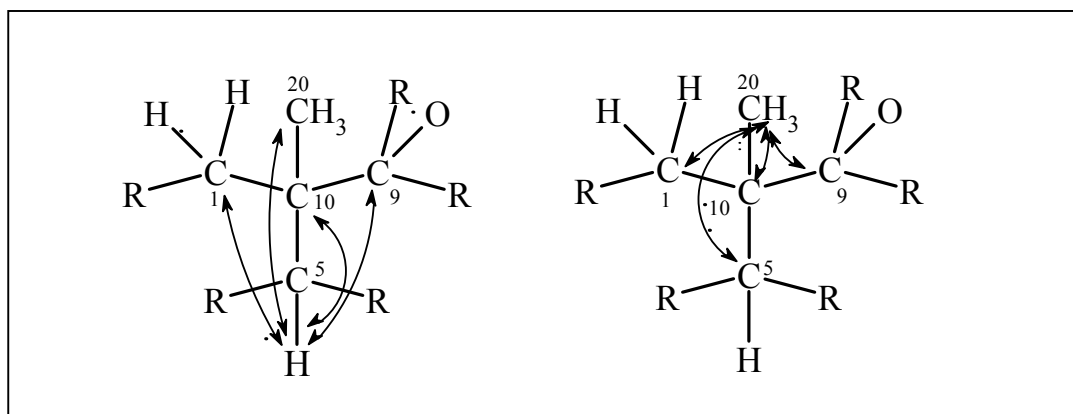


Abb. 73: CH-Korrelationen ($^2J_{CH}$ und $^3J_{CH}$) in der Teilstruktur B2 der Verbindung **2** abgeleitet aus den HMQC- (Abb. 58, S. 73) und HMBC-Spektren (Abb. 61, S. 76)

Tabelle 19: CH-Korrelation der Teilstruktur B2 der Verbindung **2**

C-Atom	δ [ppm]	korreliert mit H-Atom ($^2J_{CH}$)	H-Atom ($^3J_{CH}$)
C-1	33.3	H-2/2'	H-5; H-20
C-5	44.7	-	H-1; H-3; H-18; H-19; H-20
C-9	91.3	H-11	H-5; H-7; H-17; H-20
C-10	44.0	H-5; H-20	H-2/2'; H-11
C-20	19.1	-	H-5

Abgesichert wird Teilstruktur B2 sowohl durch Korrelationssignale von $^2J_{CH}$ und $^3J_{CH}$ -Kopplungen der Methylprotonen an C-20 zu C-1, C-5, C-9 und C-10 im HMBC-Diagramm, als auch durch das Signal einer $^4J_{HH}$ -Kopplung der Methylprotonen zu dem Methylenproton mit Resonanz bei $\delta_H=1.45-1.55$ (m, H-1') im HH-COSY-Diagramm.

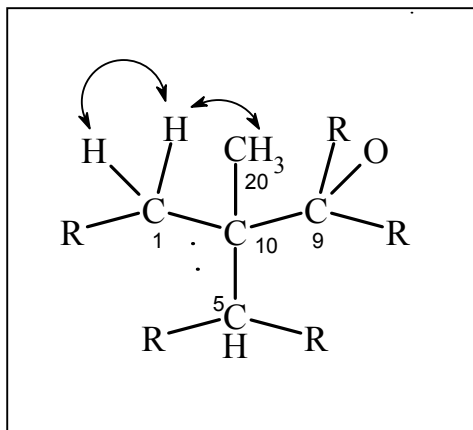


Abb. 74: HH-Korrelationen der Teilstruktur B2 der Verbindung **2** entnommen aus dem HH-COSY-Spektrum (Abb. 56, S. 71)

Tabelle 20 ^1H -NMR- und HH-COSY-Daten der Teilstruktur B2 der Verbindung **2**

Position	δ [ppm]	J [Hz]	HH-COSY
H-1	1.42 d	13.5	H-1'
H-1'	1.45-1.55 m	-	H-1, H-20
H-20	0.84 s	9.3	H-1'

2.7.2.3.3 Ableitung von Ring A

Der Zusammenschluss der Teilstrukturen A (Abb. 63, S. 78) und B2 (Abb. 72, S. 86), abgeleitet aus den Konnektivitäten der beiden Teilstrukturen gemeinsamen Kohlenstoffatome C-5 ($\text{C}_{10}\text{-C}_5\text{-C}_6$) und C-9 ($\text{C}_{10}\text{-C}_9\text{-C}_8$), führt zu einem Cyclohexenring (Ring A, Abb. 75).

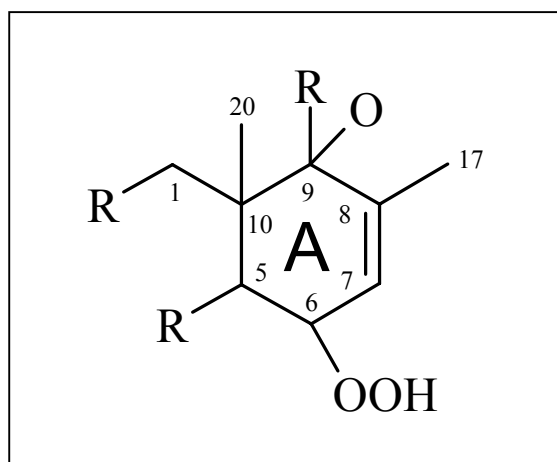
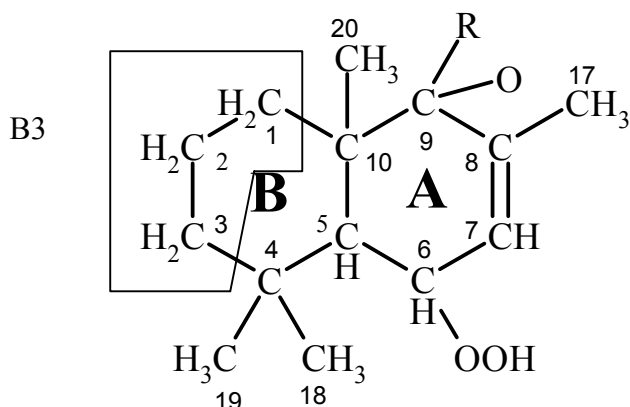


Abb. 75: Der Zusammenschluss von Teilstruktur A und B2 ergibt einen Cyclohexenring: **Ring A**

2.7.2.3.4 Ableitung der Teilstruktur B3 und Ring B



Die Teilstruktur B kann ausgehend von Teilstruktur B1 und B2 durch Einfügen einer Methylen-
gruppe (C-2), welche Kopplungen bzw. Korrelationssignale zu den beiden Methylengruppen C-1
und C-3 zeigt und welche gemeinsam Teilstruktur B3 bilden, abgeleitet werden.

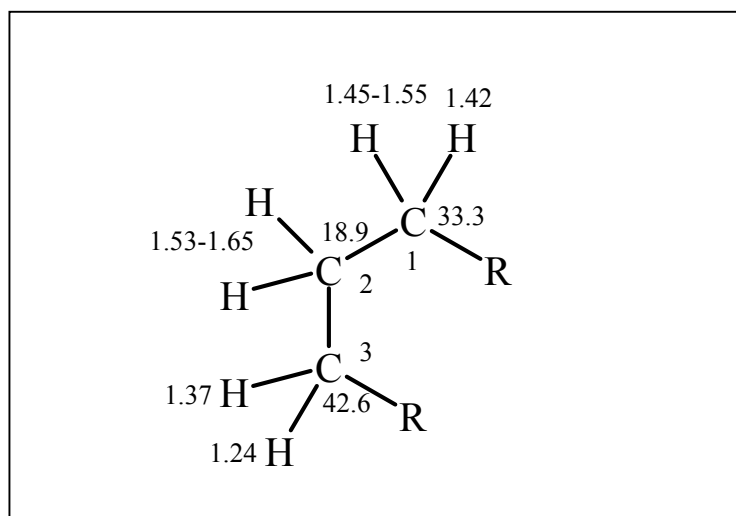


Abb. 76: Teilstruktur B3 der Verbindung 2

Ausgehend von dem Methylenproton an C-1 bei $\delta_{\text{H}}=1.42$ (H-1) finden sich zwei Kreuzsignale
von $^3J_{\text{HH}}$ -Kopplungen zu den vicinalen Protonen mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}}=1.53-1.65$ (m, H-2/2'), die
ihrerseits Kreuzsignale zum Methylenproton bei $\delta_{\text{H}}=1.24$ (H-3') (siehe Teilstruktur B1) im HH-
COSY-Spektrum (Abb. 56, S. 71) erkennen lassen. Nach dem HMQC-Diagramm (Abb. 58, S.
73) können die beiden geminalen Methylenprotonen (H-2/2') einem Kohlenstoffatom, welches
bei $\delta_{\text{C}}=18.9$ (C-2) in Resonanz tritt, zugeordnet werden.

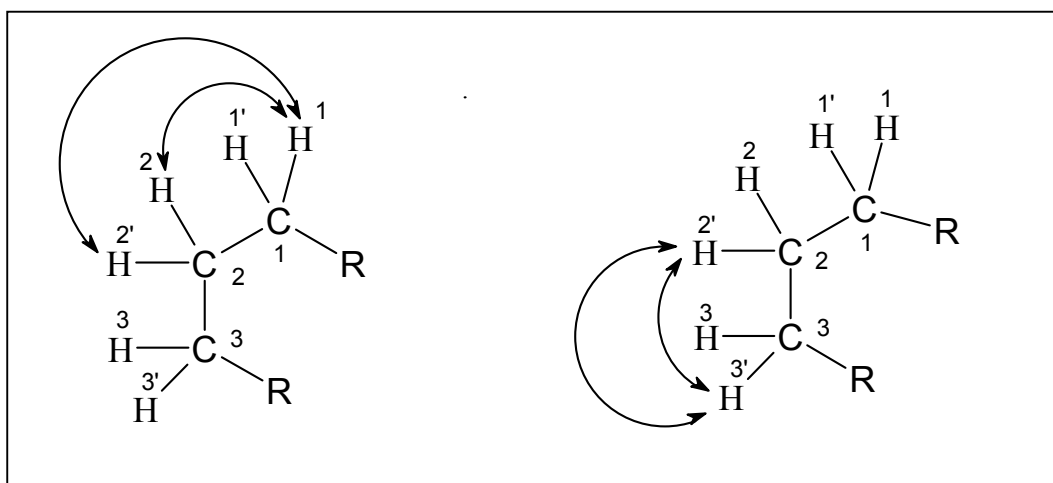


Abb. 77: HH-Korrelationen der Methylenprotonen H-2/2' aus Teilstruktur B3 der Verbindung **2** abgeleitet aus dem HH-COSY-Spektrum (Abb. 56, S. 71)

Tabelle 21: ^1H -NMR- und HH-COSY-Daten der Teilstruktur B3 der Verbindung **2**

Position	δ [ppm]	J [Hz]	HH-COSY
H-1	1.42 d	13.5	H-1', H-2/2'
H-1'	1.45-1.55 m	-	H-1, H-20
H-2/2'	1.53-1.65 m	-	H-1, H-3'
H-3	1.37 m	-	H-3'
H-3'	1.24 m	-	H-3, H-2/2', H-19

Im HMBC-Diagramm (Abb. 61, S. 76) sind die entsprechenden Kreuzsignale von $^2J_{\text{CH}}$ - und $^3J_{\text{CH}}$ -Kopplungen der Kohlenstoffatomen C-1, C-4 und C-10 zu den Methylenprotonen (H-2/2') zu erkennen (Abb. 78, S. 91):

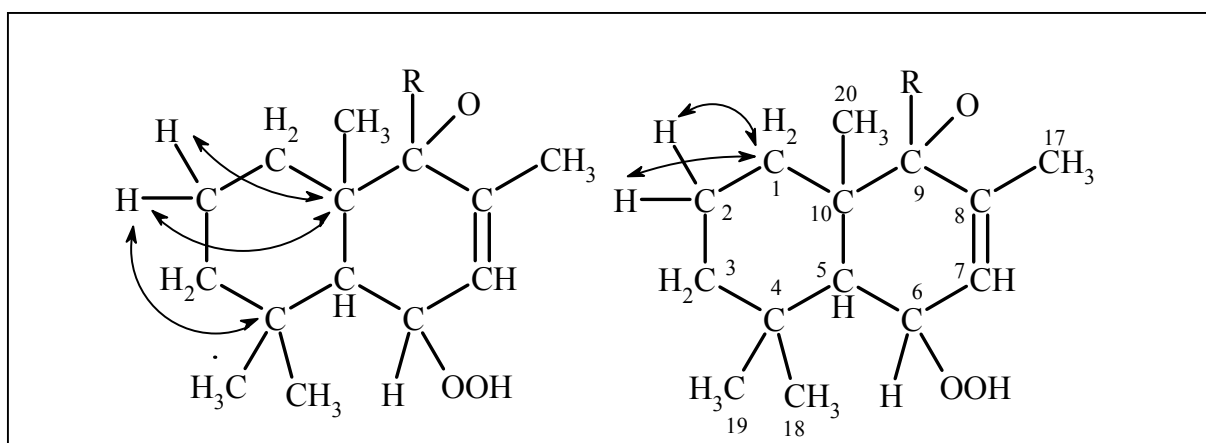


Abb. 78: $^2J_{CH}$ - und $^3J_{CH}$ -Korrelationen in der Teilstruktur B3 der Verbindung **2** abgeleitet aus den HMQC- (Abb. 58, S. 73) und HMBC-Spektren (Abb. 61, S. 76)

Tabelle 22 CH-Korrelationen der Teilstruktur B3 der Verbindung **2**

C-Atom	δ [ppm]	korreliert mit H-Atom HMQC-Spektrum ($^1J_{CH}$)	H-Atom HMBC-Spektrum ($^2J_{CH}$)	H-Atom HMBC-Spektrum ($^3J_{CH}$)
C-1	33.3	H-1/ 1'	H-2/ 2'	H-5; H-20
C-2	18.9	H-2/ 2'	-	-
C-3	42.6	H-3/ 3'	-	H-18; H-19
C-4	33.6	-	H-5; H-18; H-19	-
C-10	44.0	-	H-5; H-20	H-2/ 2'; H-11/ 11'

Die aufgezeigten Kopplungswege lassen auf eine unmittelbare Verknüpfung der Kohlenstoffatome C-1, C-2 und C-3 schließen und damit zusammen mit den Teilstrukturen B1 und B2 auf einen Cyclohexanring (Ring B, Abb. 79, S. 92), der aus den Kohlenstoffatomen C-1, C-2, C-3, C-4, C-5 und C-10 aufgebaut ist und über die Atome C-5 und C-10 gemeinsam mit dem „Ring A“ (Teilstruktur A und B2) eine Bicyclo [4.4.0] decen-Struktur bildet (Abb. 79, S. 92).

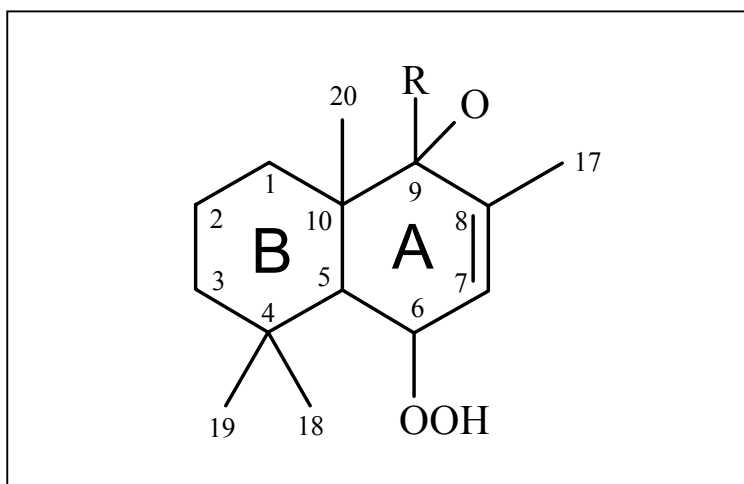


Abb. 79: Ringsystem A und B aus den Teilstrukturen A, B1, B2 und B3

2.7.2.4 Ableitung von Teilstruktur C und Ring C

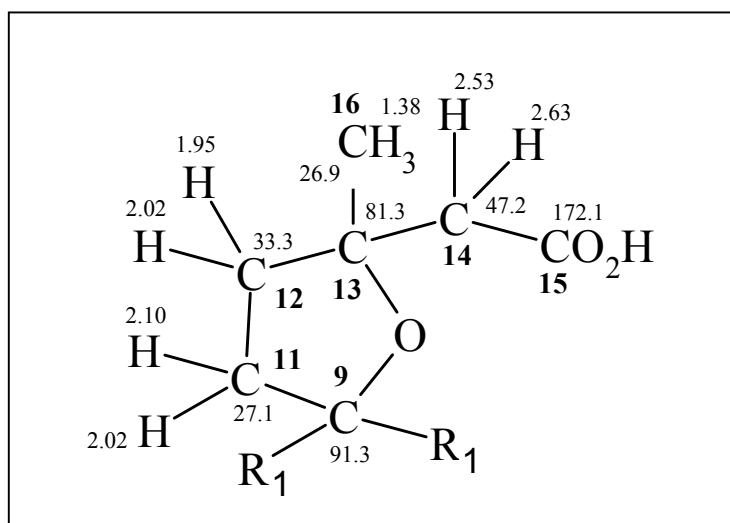


Abb. 80: Teilstruktur C der Verbindung **2** (R_1 = Ring A)

Ausgehend vom quartären Kohlenstoffatom mit Resonanz bei $\delta_C=91.3$ (C-9), welches in Teilstruktur A und B2 (S. 78 und S. 86) schon diskutiert wurde und das Bestandteil des Cyclohexenringes „Ring A“ ist, lässt sich Teilstruktur C mit Informationen aus dem HMBC-Spektrum (Abb. 59, S. 74) herleiten. So beobachtet man für C-9 im HMBC-Experiment das Kreuzsignal einer $^2J_{CH}$ -Kopplung zu einem Methylenproton mit Resonanz bei $\delta_H=2.10$ (d, H-11), dessen Signal zusammenfällt mit der Resonanz des Methinprotons H-5.

Das Proton mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}}=2.10$ ist nach dem HMQC-Spektrum (Abb. 58, S. 73) und den Daten der DEPT-Experimente (Abb. 52, S. 67) eindeutig Bestandteil einer Methylengruppe mit Resonanz bei $\delta_{\text{C}}=27.1$ (C-11), der ebenfalls das Methylenproton bei $\delta_{\text{H}}=2.02$ (H-11') zugeordnet werden kann. Die Verknüpfung der Methylengruppe C-11 mit dem quartären C-Atom C-9 wird bestätigt durch $^3\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplungen im HMBC-Experiment der Methylenprotonen H-11 mit den zu C-9 benachbarten quartären C-Atomen C-8 und C-10 (Ring A).

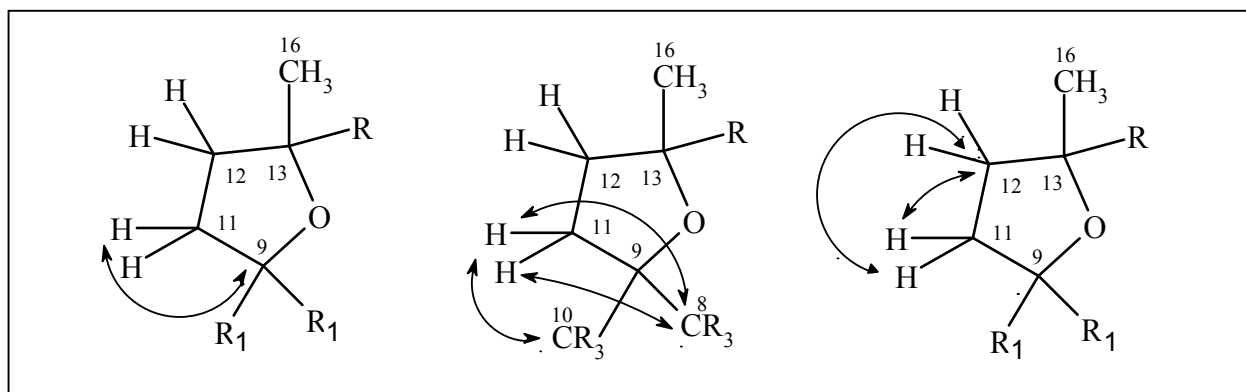


Abb. 81: CH-Korrelationen ($^2\text{J}_{\text{CH}}$, $^3\text{J}_{\text{CH}}$) der Teilstruktur C der Verbindung **2** (R_1 = Ring A) abgeleitet aus den HMQC- (Abb. 58, S. 73) und HMBC-Spektren (Abb. 59, S. 74)

Tabelle 23 CH-Korrelationen der Teilstruktur C der Verbindung **2**

C-Atom	δ [ppm]	korreliert mit H-Atom ($^2\text{J}_{\text{CH}}$)	H-Atom ($^3\text{J}_{\text{CH}}$)
C-8	139.3	-	H-11/11'
C-9	91.3	H-11	-
C-10	44.0	-	H-11
C-11	27.1	H-12/12'	-
C-12	33.3	H-11/11'	H-16
C-13	81.3	H-14/14'; H-16	-
C-14	47.2	-	H-16
C-15	172.1	H-14/14'	-
C-16	26.9	-	H-12/12'; H-14/14'

Das Aufspaltungsmuster eines Doppeldoublets von H-11' mit Resonanz bei $\delta_{\text{H}}=2.02$ im ^1H -NMR-Spektrum (Abb. 54, S. 69), deutet auf die Nachbarschaft weiterer Protonen hin. Im HMBC-Diagramm erkennt man für die Methylengruppe C-11 neben den bereits angeführten Kopplungen zu C-8 und C-10, zusätzliche $^2\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplungen zu einer weiteren Methylengruppe,

deren Protonen bei $\delta_{\text{H}}=1.95$ (dd, H-12) und $\delta_{\text{H}}=2.02$ (dd, H-12') in Resonanz treten und deren C-Resonanz nach dem HMQC-Diagramm bei $\delta_{\text{C}}=33.3$ (C-12) liegt. Die jeweiligen $^2\text{J}_{\text{HH}}$ - und $^3\text{J}_{\text{HH}}$ -Korrelationen der Methylenprotonen H-11 und H-12 sind dem HH-COSY-Diagramm (Abb. 56, S. 71) zu entnehmen. Ausgehend vom Kreuzsignal bei $\delta_{\text{H}}=2.02/2.10$ ($^2\text{J}_{\text{HH}}$ -Kopplung) kann folgender Kopplungsweg verfolgt werden (Abb. 82):

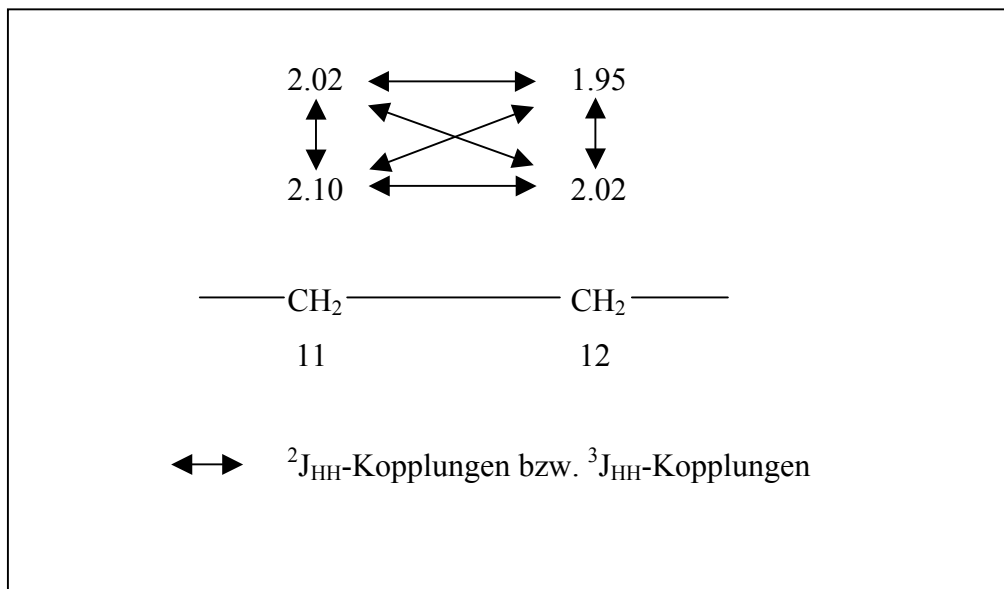


Abb. 82: HH-Korrelationen der Methylengruppen C-11 und C-12 der Verbindung **2** entnommen aus dem HH-COSY-Spektrum (Abb. 56, S. 71)

Tabelle 24 ^1H -NMR- und HH-COSY-Daten der Teilstruktur C der Verbindung **2**

Position	δ [ppm]	J [Hz]	HH-COSY Korreliert mit H ($^2\text{J}_{\text{HH}}$)	HH-COSY Korreliert mit H ($^3\text{J}_{\text{HH}}$)	HH-COSY Korreliert mit H ($^4\text{J}_{\text{HH}}$)
H-11	2.10 m	-	H-11'	H-12/12'	-
H-11'	2.02 dd	3; 10.5	H-11	H-12/12'	-
H-12	1.95 dd	2; 9	H-12'	H-11/11'	-
H-12'	2.02 dd	3; 10.5	H-12	H-11/11'	-
H-14	2.53 d	15	H-14'	-	-
H-14'	2.63 d	15	H-14	-	H-16
H-16	1.38 s	-	-	-	H-14/14'

Von $\delta_{\text{C}}=33.3$ (C-12) aus beobachtet man im HMBC-Spektrum neben der $^2\text{J}_{\text{CH}}$ -Korrelation zur benachbarten Methylengruppe C-11 eine $^3\text{J}_{\text{CH}}$ -Korrelation zu Methylprotonen die als Singulett bei $\delta_{\text{H}}=1.38$ (H-16) in Resonanz treten und nach dem HMQC-Diagramm dem C-Atom bei $\delta_{\text{C}}=26.9$ (C-16) zugeordnet werden können. Das Aufspaltungsmuster eines Singuletts für die Methylprotonen H-16 deutet auf die Nachbarschaft eines quartären C-Atoms hin, dessen chemische Verschiebung, ausgehend von einer $^2\text{J}_{\text{CH}}$ -Kopplung der Methylprotonen zu einem quartären C-Atom, bei $\delta_{\text{C}}=81.3$ (C-13) liegt. Die relative Tieffeldverschiebung dieses C-Atoms lässt auf die unmittelbare Nachbarschaft von Sauerstoff schließen. Der quartäre Kohlenstoff (C-13) ist also das die Methylgruppe tragende C-Atom und kann mit C-12 und einem Sauerstoffatom verbunden werden (Abb. 83):

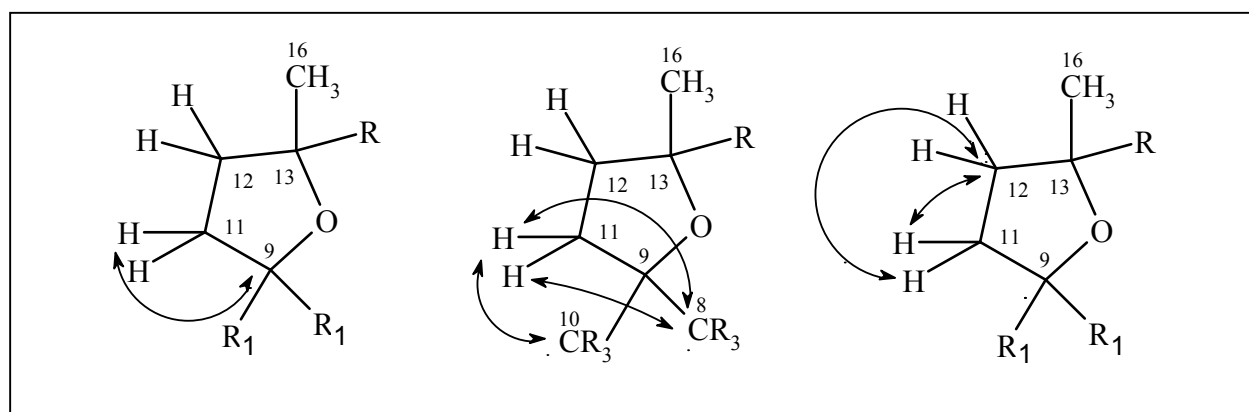


Abb. 83: CH-Korrelationen ($^2\text{J}_{\text{CH}}$, $^3\text{J}_{\text{CH}}$) der Teilstruktur C der Verbindung **2** (R_1 = Ring A), abgeleitet aus den HMQC- (Abb. 58, S. 73) und HMBC-Spektren (Abb. 61, S. 76)

Im Einklang mit den charakteristischen Verschiebungsdaten sowohl der beiden Methylengruppen C-11* und C-12* als auch den beiden quartären Kohlenstoffatomen C-9 und C-13, die aufgrund ihrer relativen Tieffeldverschiebung an ein Sauerstoffatom gebunden sein müssen, lässt sich das Vorhandensein eines Tetrahydrofuranringes (Ring C) als Bestandteil der Teilstruktur C ableiten, der zusammen mit dem Cyclohexenring (Ring A) Bestandteil einer Spiro-Verbindung ist, die über C-9 als zentrales Spiroatom verknüpft ist.

* NMR-Verschiebungsdaten von THF: $\delta_{\text{H}}= 1.85$ und 3.75 ; $\delta_{\text{C}}= 26.5$ und 68.4 [34]

[34] Hesse, Meier, Zech, Spektroskopische Methoden i.d. organischen Chemie **1987**, Georg Thieme Verlag Stuttgart

Betrachtet man im HMBC-Diagramm die Korrelationssignale des quartären C-13 so erkennt man eine weitere $^2J_{CH}$ -Kopplung zu zwei Protonen die bei $\delta_H = 2.63$ und 2.53 in Resonanz treten und das Aufspaltungsmuster eines AB-Systems geminaler Protonen mit einer Kopplungskonstante von $J = 15$ Hz zeigen. Nach dem HMQC-Experiment lassen sie sich dem Methylenkohlenstoff mit Resonanz bei $\delta_C = 47.2$ (C-14) zuordnen, so dass C-14 an C-13 angeknüpft werden kann (Abb. 84). Desweiteren finden sich $^3J_{CH}$ -Korrelationen der Methylgruppe bei $\delta_C = 26.9$ (C-16) zu eben diesen Methylenprotonen (H-14/14') wie auch zu den Methylenprotonen an C-12 (H-12/12') (Abb. 61, S. 76).

Ausgehend vom Kreuzsignal einer $^2J_{CH}$ -Korrelation des stark entschirmten Carbonylkohlenstoff einer Carbonsäurefunktion mit Resonanz bei $\delta_C = 172.1$ (C-15) zu den Methylenprotonen bei $\delta_H = 2.63$ und 2.53 (H-14/14') lässt sich die Konnektivität von C-15 und C-14 und damit die Teilstruktur C ableiten (Abb. 84).

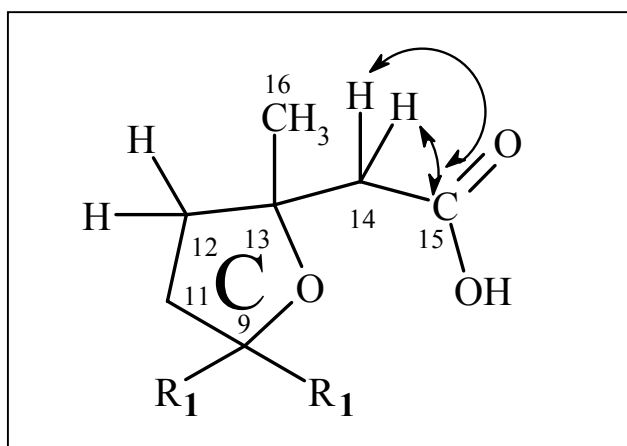


Abb. 84: CH-Korrelation ($^2J_{CH}$) der Teilstruktur C der Verbindung **2**
(R_1 = Ring A)

2.7.2.5 Ableitung der Konstitution von Verbindung 2

Die Konstitution der Verbindung **2** ergibt sich, indem man die beiden Teilstrukturen B und C über das Spiro-Atom C-9, welches Bestandteil beider Teilstrukturen ist, miteinander verbindet. So gelangt man wie bereits bei Verbindung **1** zu einem Diterpen vom Labdan-Typ mit Chiralitätszentren an C-5, C-6, C-9 und C-10 und C-13 mit der Konstitution der 6 α -Peroxygrindelasäure (zur Stereochemie s. Kap. 2.7.2.6).

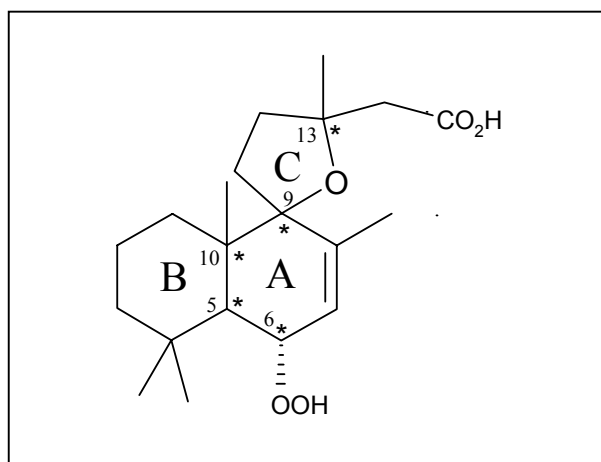


Abb. 85: Konstitution der Verbindung **2**

2.7.2.6 Diskussion der Konfiguration von Verbindung 2

2.7.2.6.1 Das HH-ROESY-Spektrum und die relative Konfiguration von Verbindung 2

Bei Verbindung **2** handelt es sich wie bei Verbindung **1** (Kap. 2.6.2.6, S. 52) um ein Derivat der Grindeliasäure. In Anlehnung an die Aussage von Paquette et al. [36], dass die natürlichen Derivate der Grindeliasäure dieselbe Stereochemie an Position C-5 und C-10 aufweisen und demzufolge das Proton H-5 und die Methylgruppe C-20 in Anti-Stellung angeordnet sind, lässt sich diese Konfiguration auch auf Verbindung **2** übertragen und bildet den Ausgangspunkt für die Ableitung der relativen Konfiguration basierend auf dem HH-ROESY-Spektrum (Abb. 62, S. 77).

Die trans-Verknüpfung der Ringe A und B (Abb. 86), analog der Verbindung **1**, wird bestätigt durch die dipolaren Wechselwirkungen der Protonen H-1 und H-6 zu den Protonen der Methylgruppe C-20 und durch die Wechselwirkung des Methinprotons H-5 zu den Protonen der Methylgruppe C-18. Letztere ist somit equatorial angeordnet.

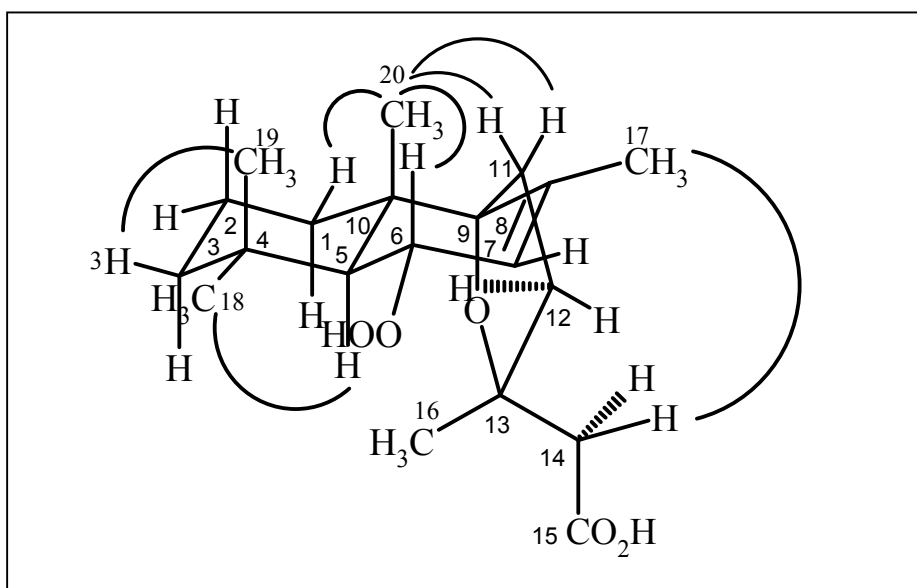


Abb. 86: Stereochemie der Verbindung **2** und Protonen-Protonen-Raum-Korrelation mittels ROESY-Spektrum

Ebenfalls analog Verbindung **1** beobachtet man für den Tetrahydrofuranring (Ring C), welcher an das Spiroatom C-9 anknüpft, dass sich das Sauerstoffatom unterhalb der Papierebene befindet, da die beiden dem THF-Ring zugehörigen Methylenprotonen H-11/11' eine räumliche Wechselwirkung zu der axialen Methylgruppe C-20 zeigen und folglich oberhalb der Papierebene liegen müssen.

Die Konfiguration am Stereozentrum C-13 lässt sich anhand der benachbarten Methylengruppe C-14 herleiten: die Methylenprotonen an C-14 weisen Kopplungssignale zur Methylgruppe C-17 auf und belegen die räumliche Nähe dieser Protonen miteinander (Abb. 86, S. 98).

Die Methylengruppe C-14 sollte um ihre Achse frei drehbar sein. Dennoch zeigt eines der beiden Protonen (H-14') ein stärkeres Kopplungssignal zu der Methylgruppe H-17 als sein geminales Gegenstück, so dass man von einer eingeschränkten Drehbarkeit ausgehen kann, in welcher das Proton H-14' den Methylprotonen H-17 räumlich näher steht.

Betrachtet man das axiale Methinproton H-5, erkennt man im ¹H-NMR-Spektrum die Kopplungskonstante einer *trans*-Kopplung ($J = 9.3$ Hz) zu dem vicinalen Proton H-6, welches sich um 180° gedreht ebenfalls in axialer Position jedoch oberhalb der Papierebene befindet (vgl. Teilstruktur A, S. 70) was zur schon erwähnten dipolaren Wechselwirkung mit der Methylgruppe C-20 führt und der Peroxidgruppierung eine equatoriale Position zukommen lässt.

2.7.2.6.2 Die absolute Konfiguration von Verbindung 2

In Bezug zur absoluten Konfiguration der natürlich vorkommenden (-)-Grindeliasäure und nach Auswertung des HH-ROESY-Diagramms und des ¹H-NMR-Spektrums (Kap. 2.7.2.6.1) lässt sich für Verbindung **2** folgende stereochemische Strukturformel formulieren, welche bis auf die unterschiedlich substituierten Positionen C-6, C-7, C-8 und C-17 Verbindung **1** entspricht:

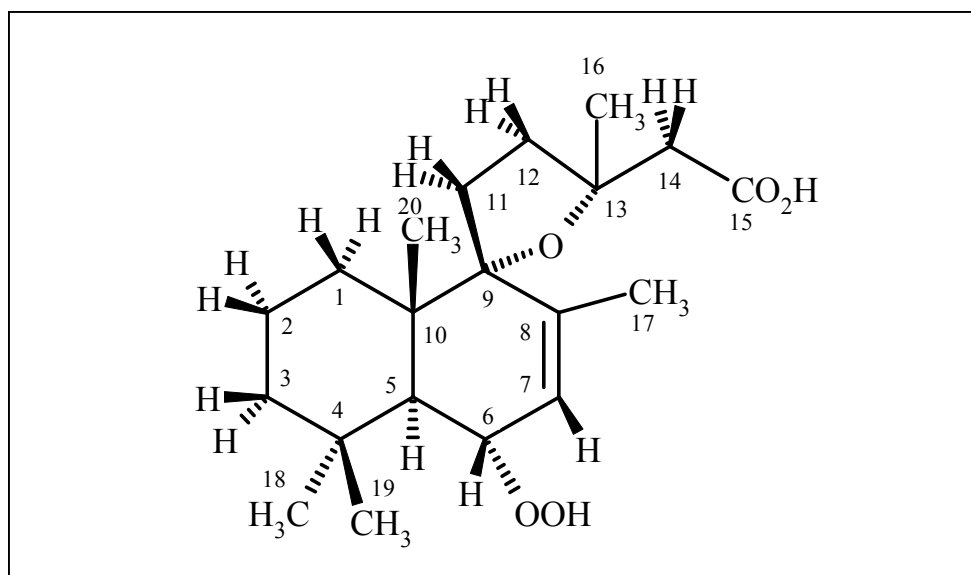


Abb. 87: Stereochemie der Verbindung **2** abgeleitet nach dem HH-ROESY-Spektrum (Abb. 62, S. 77)

Somit lässt sich für Verbindung **2** an den Positionen C-5, C-6, C-9, C-10 und C-13 folgende absolute Konfiguration ableiten: 5 (S), 6 (R), 9 (S), 10 (S), 13 (S), siehe auch Abb. 87.

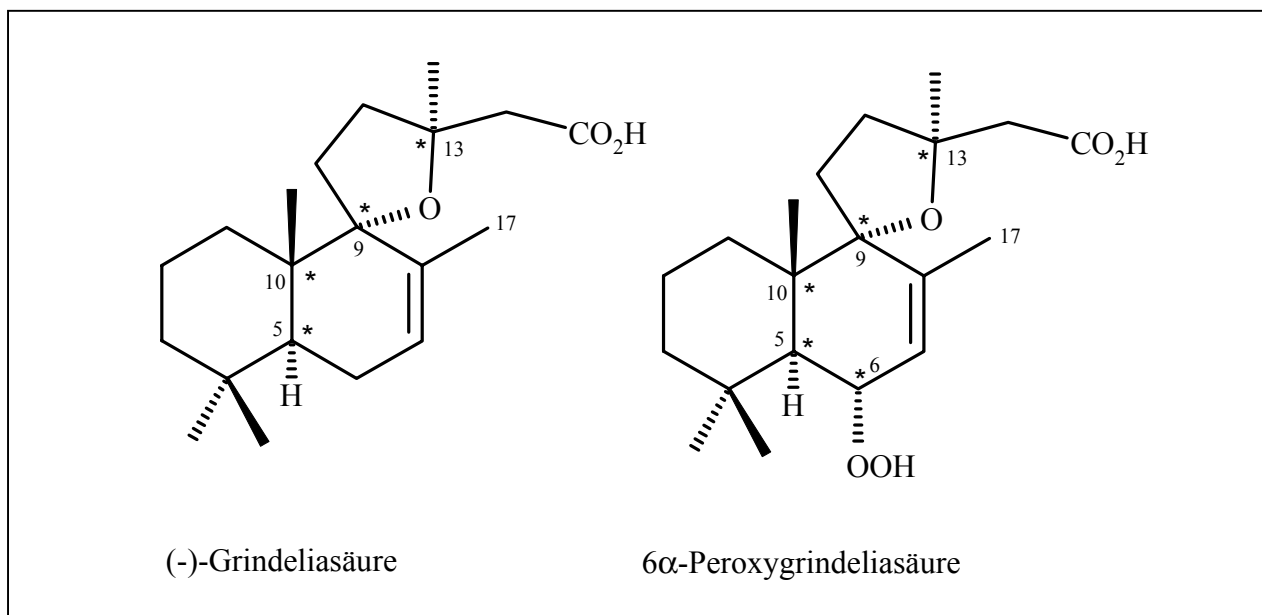


Abb. 88: Stereochemie an den Chiralitätszentren

2.7.2.7 Zusammenfassung der NMR-Daten der Verbindung 2

Tabelle 25 ^{13}C - und ^1H -NMR-spektroskopische Daten der Verbindung 2 (125 MHz, CDCl_3)

Position	DEPT	$\delta^{13}\text{C}$ [ppm]	$\delta^1\text{H}$ [ppm]	M	J [Hz]
C-1	CH_2	33.3	1.42	d	$J = 13.5$
			1.45-1.55	m	-
C-2	CH_2	18.9	1.53-1.65	m	-
C-3	CH_2	42.6	1.37	m	-
			1.24	m	-
C-4	C	33.6	-	-	-
C-5	CH	44.7	2.09	d	$J_{5,6} = 9.3$
C-6	CH	80.8	4.40	ddq	$J_{5,6} = 9.3$; $J_{6,7} = 3.5$; $J_{6,17} = 1.5$
C-7	CH	128.4	5.82	dd	$J_{6,7} = 3.5$; $J_{7,17} = 1.5$
C-8	C	139.3	-	-	-
C-9	C	91.3	-	-	-
C-10	C	44.0	-	-	-
C-11	CH_2	27.1	2.10	m	-
			2.02	dd	$J = 3$; $J = 10.5$
C-12	CH_2	33.3	1.95	dd	$J = 2$; $J = 9$
			2.02	dd	$J = 3$; $J = 10.5$
C-13	C	81.3	-	-	-
C-14	CH_2	47.2	2.53	d	$J = 15$
			2.63	d	$J = 15$
C-15	C	172.1	-	-	-
C-16	CH_3	26.9	1.38	s	-
C-17	CH_3	21.2	1.85	ps	-
C-18	CH_3	34.5	1.08	s	-
C-19	CH_3	22.6	0.98	s	-
C-20	CH_3	19.1	0.84	s	-

Tabelle 26 HH-COSY- und HH-ROESY-Daten (500 MHz, CDCl₃) der Verbindung **2**

Proton	δ [ppm]	HH-COSY korreliert mit H ($^2J_{HH}$)	HH-COSY korreliert mit H ($^3J_{HH}$)	HH-COSY korreliert mit H ($^4J_{HH}$)	HH-ROESY steht in räumlicher Nähe zu Proton
H-1	1.42 d	H-1'	H-2/2'	-	H-11, H-20
H-1'	1.45-1.55 m	H-1	-	H-20	-
H-2/2'	1.53-1.65 m	H-2'	H-1; H-3'	-	H-19, H-20
H-3	1.37 m	H-3'	-	-	H-19
H-3'	1.24 m	H-3;	H-2,2'	H-19	-
H-5	2.09 d	-	H-6	-	H-18
H-6	4.40 ddq	-	H-5, H-7	H-17 ($^5J_{HH}$)	H-18, H-19; H-20
H-7	5.82 dd	-	H-6	H-17	-
H-11	2.10 m	H-11'	H-12/12'	-	H-1, H-16, H-20
H-11'	2.02 dd	H-11	H-12/12'	-	H-20
H-12	1.95 dd	H-12'	H-11/11'	-	-
H-12'	2.02 dd	H-12	H-11/11'	-	H-20
H-14	2.53 d	H-14'	-	-	-
H-14'	2.63 d	H-14	-	H-16	H-17
H-16	1.38 s	-	-	H-14/14'	H-11
H-17	1.85 ps	-	-	H-6 ($^5J_{HH}$); H-7	H-14'
H-18	1.08 s	-	-	H-19	H-5, H-6
H-19	0.98 s	-	-	H-3'; H-18	H-2/2'; H-3; H-6
H-20	0.84 s	-	-	H-1'	H-1; H-2/2'; H-6; H-11/11'; H-12'

Tabelle 27 Signifikante Korrelationen aus den HMQC- und HMBC-Experimenten
der Verbindung **2** (500/125 MHz, CDCl₃)

Position	$\delta^{13}\text{C}$ [ppm]	HMQC korreliert mit H ($^1J_{\text{CH}}$)	HMBC korreliert mit H ($^2J_{\text{CH}}$)	HMBC korreliert mit H ($^3J_{\text{CH}}$)
C-1	33.3	H-1/1'	H-2/2'	H-5; H-20
C-2	18.9	H-2/2'	-	-
C-3	42.6	H-3/3'	-	H-18; H-19
C-4	33.6	-	H-5; H-18; H-19	H-2/2'
C-5	44.7	H-5	-	H-1; H-3; H-18; H-19, H-20
C-6	80.8	H-6	H-5	-
C-7	128.4	H-7	-	H-17
C-8	139.3	-	H-17	H-11/11'
C-9	91.3	-	H-11	H-5; H-7; H-17; H-20
C-10	44.0	-	H-5; H-20	H-2/2'; H-11
C-11	27.1	H-11/11'	H-12/12'	-
C-12	33.3	H-12/12'	H-11/11'	H-16
C-13	81.3	-	H-14/14'; H-16	-
C-14	47.2	H-14/14'	-	H-16
C-15	172.1	-	H-14/14'	-
C-16	26.9	H-16	-	H-12/12'; H-14/14'
C-17	21.2	H-17	-	H-7
C-18	34.5	H-18	-	H-5; H-19
C-19	22.6	H-19	-	H-5; H-18
C-20	19.1	H-20	-	H-5

2.7.2.8 Vergleich der NMR-Daten von Verbindung 2 mit ähnlichen Strukturen

Vergleicht man die NMR-Daten von Verbindung **2** mit den Daten des entsprechenden Alkohols, welcher sowohl aus *Grindelia humilis* [20] isoliert als auch synthetisch dargestellt wurde [41], so ergibt sich bzgl. der ^{13}C -NMR-Daten eine weitgehende Übereinstimmung (Tabelle 28, S. 106).

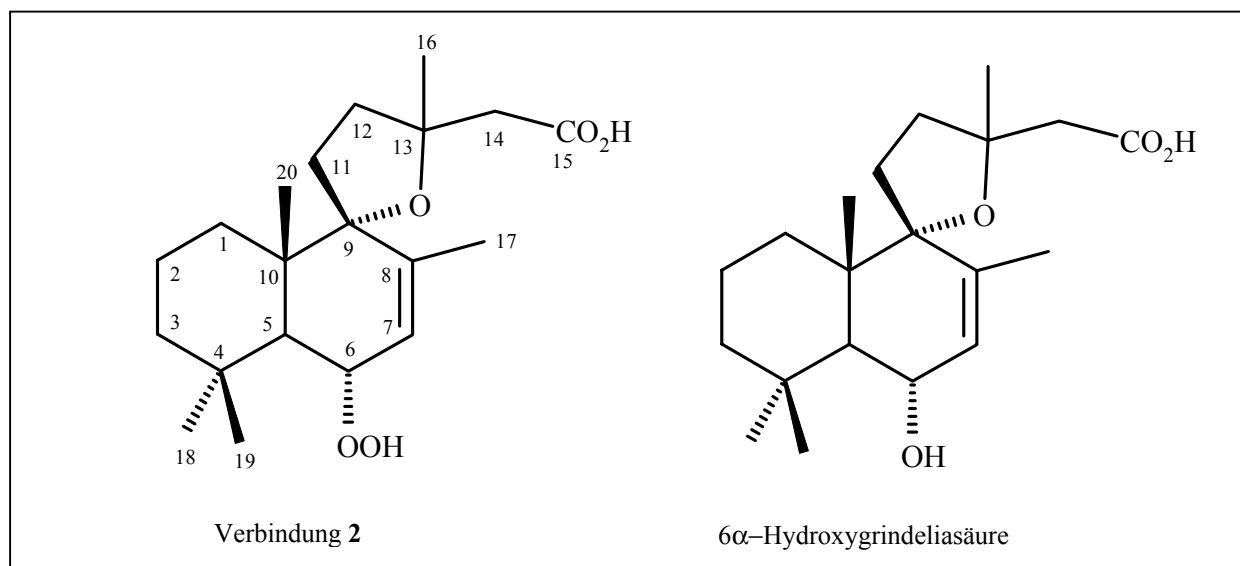
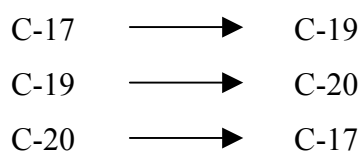


Abb.89: Gegenüberstellung der Struktur von Verbindung **2** mit 6 α -Hydroxygrindeliasäure

Ausnahmen bilden die Verschiebungswerte des Methylenkohlenstoffatoms C-1 (Abweichung: 6.0 ppm) wie auch der Methylkohlenstoffatome C-17, C-19 und C-20 (die Werte von C-19 und C-20 sind jedoch nach [20] austauschbar). Wechselt man die Positionen der C-Atome von 6 α -Hydroxygrindeliasäure nach folgendem Schema:



erfolgt eine Übereinstimmung mit den gemessenen Werten von Verbindung **2** bis zu 0.1 ppm. Weiterhin sind starke Abweichungen der ^{13}C - und ^1H -NMR-Werte von C-6 und dem zur Hydroperoxidgruppe geminalen Proton H-6 der Verbindung **2** gegenüber dem Alkohol zu beobachten.

[20] A.F.Rose et al., *Phytochemistry* **1981**, 20, 9, 2249-2253

[41] M.González-Sierra, *J.Org.Chem.* **1984**, 49, 4984-4988

So liegen die Verschiebungswerte der Verbindung **2** mit $\delta_{C6} = 80.8$ und $\delta_{H6} = 4.40$ erwartungsgemäß im tieferen Feld gegenüber den Verschiebungswerten des Alkohols [41] mit $\delta_{C6} = 67.9$ und $\delta_{H6} = 4.00$. Die Werte für den aus *G. humilis* isolierten vermeintlichen Alkohol [20] liegen jedoch mit $\delta_{C6} = 80.7$ und $\delta_{H6} = 4.38$ ebenfalls im tiefen Feld und lassen auch hier auf eine Peroxidgruppierung anstatt eines Alkohols schließen (Tabelle 28, S. 104). Die benachbarten Kohlenstoffatomen C-5, C-7 und C-8 unterliegen ebenfalls dem Einfluss der Peroxidfunktion und zeigen gegenüber dem Alkohol [41] stark abweichende ^{13}C - und ^1H -NMR-Werte.

Die δ_{H} - und δ_{C} -Verschiebungswerte des Peroxids **2** an den Positionen C-14 und C-17 weichen hingegen nur schwach von denen des synthetisch dargestellten Alkohols ab, wobei zu beachten ist, dass es sich hier um den entsprechenden Methylester der Säure handelt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Verbindung **2** die typische Tieffeldverschiebung eines mit einer Hydroperoxidgruppe substituierten C-Atoms aufweist und dass es sich bei dem von Rose et al. aus *G. humilis* isolierten vermeintlichen Alkohol [20] sehr wahrscheinlich um ein Peroxid handelt.

Tabelle 28 Gegenüberstellung der ^{13}C - und ^1H -NMR-spektroskopische Daten der Verbindung **2** (125/500 MHz, CDCl_3) mit Literaturangaben des korrespondierenden Alkohols

Position	δ_{C} [ppm] Verbindung 2	δ_{H} [ppm] Verbindung 2	δ_{C} [ppm] (25MHz) Alkohol [20]	δ_{H} [ppm] (90 MHz) Alkohol [20]	δ_{C} [ppm] (20 MHz) Alkohol [41]	δ_{H} [ppm] (80 MHz) Alkohol [41]
C-1	33.3	1.42 d	39.3		33.3	
		1.45-1.55 m				
C-2	18.9	1.53-1.65 m	18.9		18.7	
C-3	42.6	1.37 m	42.5		42.9	
		1.24 m				
C-4	33.6	-	33.6		33.3	
C-5	44.7	2.09 d	44.7		51.0	
C-6	80.8	4.40 ddq	80.7	4.38 dm	67.9	4.00 brd
C-7	128.4	5.82 dd	128.4	5.83 m	130.4	5.50 m
C-8	139.3	-	139.2		136.6	
C-9	91.3	-	91.3		89.1	
C-10	44.0	-	43.9		42.9	
C-11	27.1	2.10 m	27.0*		27.6	
		2.02 dd				
C-12	33.3	1.95 dd	33.3*		38.0	
		2.02 dd				
C-13	81.3	-	81.2		81.3	
C-14	47.2	2.53 d	47.1	2.52 d	47.4	2.55 Abq
		2.63 d		2.59 d		
C-15	172.1	-	171.9		171.4	
C-16	26.9	1.38 s	26.8	1.38 s	27.3	1.33
C-17	21.2	1.85 ps	22.5	1.85 s	22.6	1.77 br s
C-18	34.5	1.08 s	34.4	1.08 s	35.3	1.13
C-19	22.6	0.98 s	19.0*	0.98 s	20.5	1.01
C-20	19.1	0.84 s	21.1*	0.84 s	18.9	0.84
					51.3 (MeO)	3.65

* austauschbar

2.7.3 Überlegungen zur Biosynthese bzw. Darstellung

Ein möglicher Bildungsweg von Verbindung **2** ist die Autoxidation der Grindeliasäure:

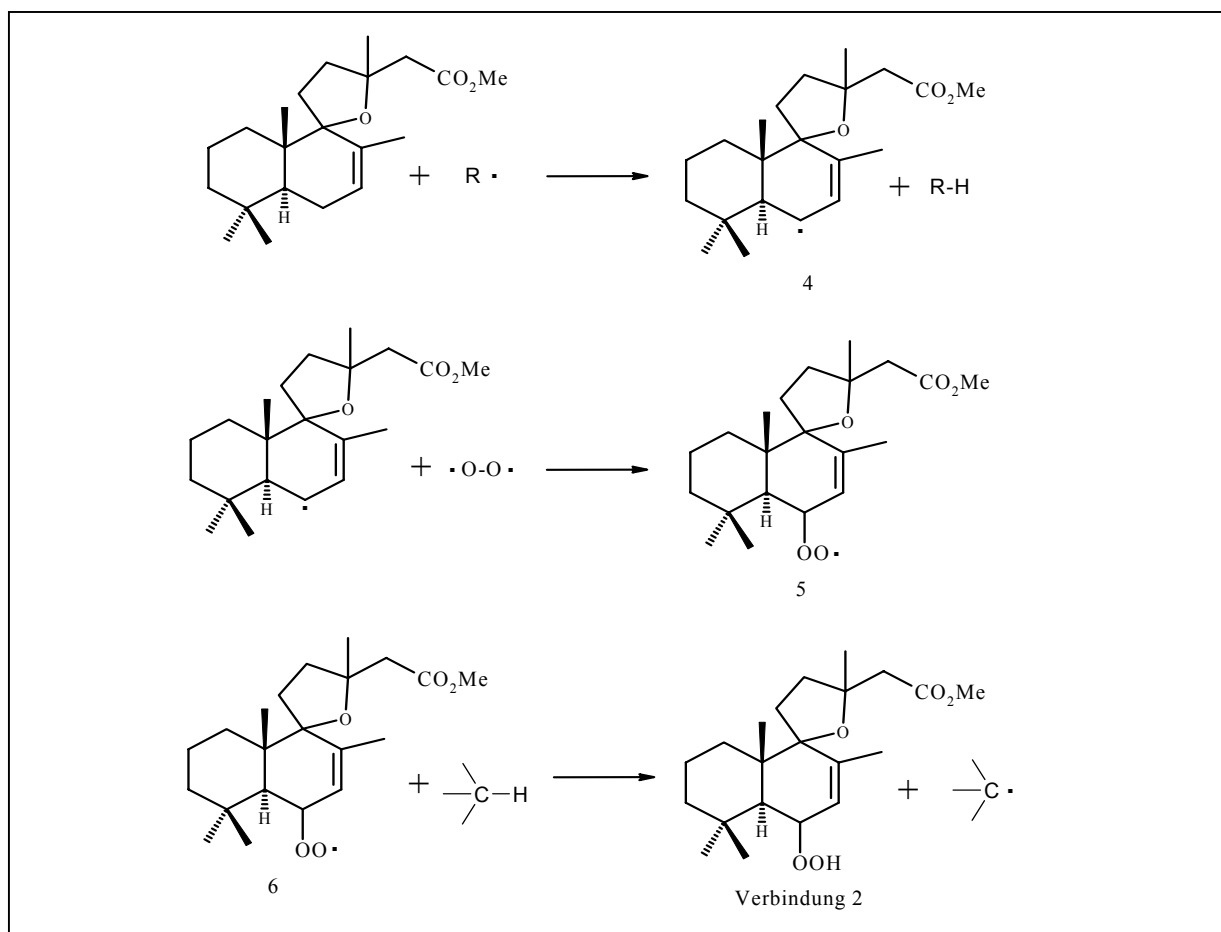


Abb. 90: Möglicher Syntheseweg der Verbindung **2**

Hierbei handelt es sich um eine Zersetzungsreaktion, die durch Sonnenlicht und Luftsauerstoff verursacht werden kann. Ein photolytisch gebildetes Radikal löst die Reaktion aus und führt auf dem oben dargestellten Weg zum Hydroperoxid (Abb. 90). Die Autoxidation kann sowohl in der Pflanze ablaufen als auch zur Darstellung von Verbindung **2**, ausgehend von Grindeliasäure, genutzt werden. Diesbezügliche Versuche wurden aus Zeitgründen nicht durchgeführt.

2.8 Verbindung 3 ((-)-Grindeliasäure)

Verbindung 3 wurde in Form weißer Kristalle mit einer spezifischen Drehung von $[\alpha]_D^{20} = -81,9^\circ$ erhalten. Ein Vergleich der physikalischen Daten, insbesondere der ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Daten mit denen der Grindeliasäure [36], zeigt Übereinstimmung (vgl. Exp. Teil 3.2.2.6, S. 118).

2.9 Photooxidation

2.9.1 Ziel der Photooxidation

Zur Absicherung der Struktur und zur Bereitstellung größerer Mengen für Untersuchungen auf biologische Aktivität sollte Verbindung 1 partialsynthetisch dargestellt werden.

2.9.2 Durchführung

Als Edukt wurde Grindeliasäure, isoliert aus Fraktion 5 des Rohextraktes II (2.5.3, S. 17), in Gegenwart von Sauerstoff und UV-Licht mittels eines Sensibilisators photooxidiert (Abb. 91).

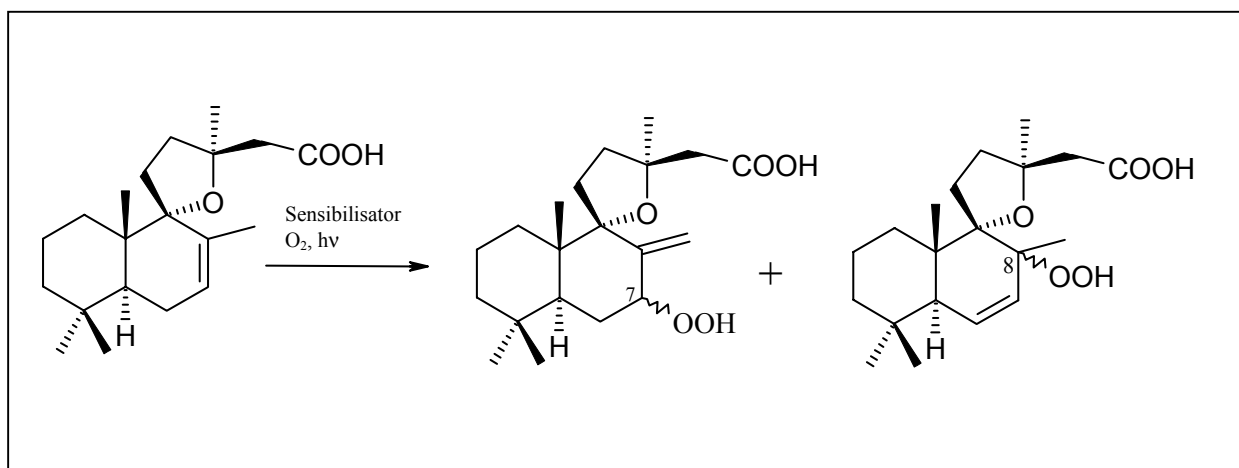


Abb. 91: Photooxidation von Grindeliasäure zu den beiden möglichen Hydroperoxiden

Zur Synthese des gewünschten Produktes sind verschiedene Parameter der Reaktionsvorschrift wie Temperatur, Lösungsmittel, Sensibilisator, Eduktmenge und Lichtquelle variiert worden (Tabellen 30/ 31, S. 120/ 121).

Eine Photooxidation von Grindeliasäure ist bereits 1984 vom M.G.Sierra et al. [41] in Tetrachlorkohlenstoff und mit m-Tetraphenylporphin als Sensibilisator durchgeführt worden (18h Reaktionsdauer), wobei das Reaktionsprodukt direkt *in situ* mit Trimethylphosphit zum Alkohol reduziert wurde. Über das Peroxid als Zwischenstufe wurden keine Angaben gemacht. Die Versuchsbedingungen dieser Vorschrift wurden ebenfalls berücksichtigt (siehe Tabelle 31, S. 121).

2.9.3 Ergebnis

Trotz mehrerer Photooxidationen konnte keines der beiden theoretisch möglichen Hydroperoxide isoliert bzw. dc nachgewiesen werden, obwohl dc eine Peroxidbildung nachweisbar war. DC waren bis zu 3 peroxidhaltige Zonen mit Peroxidreagenz detektierbar, welche sich nach einer säulenchromatographischen Aufarbeitung oft vervielfachten, woraus ein Zerfall gedeutet werden kann. Diese Banden waren jedoch sehr schwach.

Die charakteristische Blaufärbung war dc je nach Art der Strahlungsquelle zu verschiedenen Reaktionszeiten nachweisbar. Zudem war Vorsicht bei der Reaktionsdauer gegeben: bei zu langer UV-Bestrahlung verschwanden die gebildeten Peroxide wieder. Dies ist auch der Grund weshalb die Photooxidation mit Grindeliasäure nicht immer bis zur vollständigen Umsetzung durchgeführt wurde. Der Einfluss der einzelnen Parameter auf die Peroxidbildung zeigte sich in folgender Weise (siehe 3. Experimenteller Teil, Tabelle 32, S. 122).

Folgende Beobachtungen wurden gemacht:

- Temperatur

Eine Erhöhung der Temperatur von $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ auf $+3\text{ }^{\circ}\text{C}$ bzw. auf $+8 - +10\text{ }^{\circ}\text{C}$ wirkte sich positiv auf die Ausbeute an Peroxiden aus.

- Lösungsmittel

Der Wechsel des Lösungsmittels von Chloroform auf Dichlormethan begünstigte die Peroxidbildung. Bei der Verwendung von Tetrachlorkohlenstoff zeigte sich keine Peroxidbildung.

[41] M.González Sierra et al., *J.Org.Chem.* **1984**, 49, 4984-4988

- Sensibilisator

Beim Austausch von Bengal Rosa gegen Triphenylporphin konnte keine Steigerung der Ausbeute bzw. Peroxidbildung beobachtet werden.

- Eduktmenge

Eine Verzehnfachung der Eduktmenge und somit Erhöhung der Konzentration führten zu keiner Verbesserung des Ergebnisses.

- Lichtquelle

Durch den Wechsel eines Hg-Hochdruckstrahlers ($\lambda = 253,7 \text{ nm}$) gegen einen Hg-Mitteldruckstrahler ($\lambda > 190 \text{ nm}$, breitbandige Emission) verkürzte sich die Reaktionsdauer der Peroxidbildung (DC-Kontrolle) erheblich. Statt einer 6,5-36 stündigen Reaktionsdauer (Hg-Hochdruckstrahler) konnte die Reaktion bei Verwendung eines Hg-Mitteldruckstrahlers schon nach ca. 1,5 h mit starker Peroxidbildung (DC-Kontrolle) beendet werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Peroxidbildung durch die Verwendung eines Hg-Mitteldruckstrahlers erheblich beschleunigt wurde (Tabelle 31, S. 121). Eine Temperaturerhöhung auf über 0°C und Dichlormethan als Lösungsmittel führte ebenfalls zu einer Reaktionsverbesserung, jedoch konnte Verbindung **1** weder isoliert noch dc nachgewiesen werden.

3 Experimenteller Teil

3.1 Verwendete Chemikalien und Geräte

3.1.1 Lösemittel

Alle Lösemittel wurden, falls nicht anders angegeben, über eine Füllkörperkolonne destilliert. Der verwendete Petrolether hatte einen Siedebereich von 40-60 °C.

3.1.2 Sprühreagenzien

a) Sprühreagenz für Peroxide [32] (Peroxidreagenz)	α -Naphthol	0,30 g
	Methanol	15 ml
	Wasser	135 ml
	Kaliummetabisulfit ($K_2S_2O_5$)	0,05 g
	Eisessig	20 ml
	Eisen(II)-sulfat Heptahydrat	0,05 g
	Farbentwickler 3 (Merck)	0,22 g
	N-{2-[N-Ethyl-N-(4-amino-3-methylphenyl)-amino]-ethyl}-methan-sulfonamidsesquisulfat (Monohydrat)	

Die verwendeten Reagenzien wurden in der angegebenen Reihenfolge zusammengebracht und das Sprühreagenz alle zwei Wochen frisch hergestellt.

b) Allgemeines Sprühreagenz für Terpene (Anisaldehydreagenz)	Anisaldehyd	1 ml
	Ethanol	50 ml
	Eisessig	50 ml
	Konz. Schwefelsäure	2 ml

Nach dem Besprühen wurde mit dem Heißluftfön bis zur optimalen Farbentwicklung erwärmt.

3.1.3 Dünnschichtchromatographie

DC-Platten: Kieselgelfertigplatten 60 F₂₅₄, Glas, Schichtdicke 0,25 mm (Merck, Darmstadt)

Detektion: Die DC-Platten wurden nach dem Trocknen im Warmluftstrom (30-40 °C) im UV-Licht bei 254 nm (Fluoreszenzlöschung) und 366 nm (Eigenfluoreszenz) betrachtet. Anschließend wurde mit verschiedenen Sprühreagenzien behandelt.

3.1.4 Säulenchromatographie

Soweit nicht anders angegeben, wurde die SC mit hydrostatischen Säulen durchgeführt. Es wurden Glassäulen unterschiedlicher Größe und Volumina verwendet (**d** = Durchmesser; **l** = Länge). Vorläufe der Fließmittel wurden bei den angegebenen Fraktionen nicht mit einbezogen. Das Sorbens (Kieselgel 60, Korngröße 63-200 µm, Merck) wurde vor dem Einfüllen in die Säulen im jeweiligen Fließmittel suspendiert.

3.1.5 Geräte

NMR-Spektren	Bruker AMX 500 ¹⁰⁰ (¹ H-NMR: 500 MHz; ¹³ C-NMR: 125 MHz)	Bruker, Rheinstetten
FAB-MS	Concept 1H ¹⁰¹	Kratos, Manchester/ UK
IR-Spektren	Infrared Spectrophotometer 298	Perkin-Elmer, Überlingen
Optische Drehung	Polarimeter 241	Perkin-Elmer, Überlingen
Photoreaktor	Labor-UV-Reaktorsystem 2 Hg-Mitteldruckstrahler TQ 150 Zwangsumlauf- und UV-Apparatur Hg-Hochdruckstrahler HPK 125	Heraeus, Hanau Dema, Bornheim/ Roisdorf

¹⁰⁰ Herrn Dr. R. Hartmann und Herrn W. Tomberg, Institut für Physiologische Chemie der Universität Bonn, danke ich für die Durchführung der Experimente.

¹⁰¹ Herrn Dr. G. Eckhardt, Zentralanalytik, Chemische Institute der Universität Bonn, danke ich für die Aufnahme der Spektren

Ultraturrax	T50 DPX	Janke & Kunkel, Staufen
Gartenhäcksler	Typ 82-2	Gloria, Wadersloh

3.2 Pflanzenmaterial und Extraktion

Die oberirdischen Teile von *Grindelia robusta* N. wurden während der Blütezeit sowohl im Botanischen Garten (Juli 1998, Rohmaterial I), im Garten des Pharmazeutischen Institutes (Juli 1999, Rohmaterial II), als auch im Versuchsgarten der Pharmazeutischen-Biologie (Juli 2000, Rohmaterial II) geerntet. Eine DC-Voruntersuchung ließ erkennen, dass der Gehalt an Peroxiden in den Blüten, im Vergleich zum Gehalt in Blättern und Stengeln, am höchsten ist. Daraufhin wurden sowohl die oberirdischen Teile (Stengel, Blätter, Blüten, 6,31 kg, Rohmaterial I) als auch die abgetrennten Blüten (0,65 kg, Rohmaterial II) einer Extraktion mit Dichlormethan unterzogen.

Rohmaterial I: Das frische und sehr klebrige Pflanzenmaterial wurde gehäckselt und einer Ultraturrax-Mazeration in Dichlormethan unterworfen. Der so erhaltene Extrakt wurde durch Filtration von den Pflanzenresten befreit und das Lösungsmittel im Vakuum bei +25 °C entfernt. Bei dem erhaltenen **Rohextrakt I** (148,8 g = 2,36 %) handelt es sich um eine dunkelgrüne, stark zähflüssige Masse, die zur weiteren Bearbeitung unter Stickstoff bei –18 °C gelagert wurde.

Rohmaterial II: Das hierbei verwendete Pflanzenmaterial wurde im Garten des Pharmazeutischen Institutes und im Versuchsgarten der Pharmazeutischen Biologie kultiviert. Samenmaterial des Botanischen Gartens der Universität Bonn wurde im Versuchsgarten der Pharmazeutischen Biologie angezogen und ein Teil der dort gezogenen Keimlinge in den Garten des Pharmazeutischen Institutes umgepflanzt. Von den voll entwickelten Blütenköpfen wurden die Zungenblüten abgetrennt und zusammen mit den zerkleinerten Röhrenblüten und Blütenkelchen in Dichlormethan mit einem Ultraturrax mazeriert. Der gelbe Extrakt wurde filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum bei +25 °C entfernt. Die so gewonnene gelbe, viskose Masse wurde zur weiteren Bearbeitung unter Stickstoff bei –18 °C aufbewahrt (**Rohextrakt II:** 15,12g = 2,33 %).

3.2.1 Aufarbeitung des Dichlormethan-Rohextraktes I

3.2.1.1 Vortrennung

Es wurden 48,7 g Rohextrakt mit 100 ml Methanol versetzt. Es entstand eine grüne Lösung aus der sich ein weißer Rückstand absetzte. Die Lösung wurde abfiltriert und der Rückstand noch sechs mal mit je 50 ml Methanol gewaschen und abgetrennt. Eine dc-Auftrennung und nachfolgende Detektion mit Peroxidreagenz zeigte, dass der weiße Rückstand frei von Peroxiden war (keine Blaufärbung durch das Sprühreagenz), weshalb er verworfen wurde. Die so erhaltenen methanolischen Lösungen wurden vereinigt und das Methanol im Vakuum bei +25 °C entfernt. Der so gewonnene grüne Extrakt (Ia) wog 18,5 g.

3.2.1.2 Säulenchromatographische Trennung des Dichlormethanextraktes Ia

Der Dichlormethanextrakt Ia wurde sc in sieben Sammelfractionen à 500 bis 700 ml aufgetrennt.

Säule: l = 33 cm d = 8 cm

Eluent: Dichlormethan

Sorbens: 500 g Kieselgel 60

Vorlauf: 400 ml

Verbindung **1** konnte nach dc Analyse der Sammelfractionen 1-7 und nachfolgender Detektion mit Peroxidreagenz in Fraktion 4 nachgewiesen werden. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurden 0,135 g der peroxidhaltigen Sammelfraction 4 erhalten (0,73 % des Dichlormethanextraktes Ia).

3.2.1.3 Säulenchromatographische Trennung der Sammelfraction 4

Aus 0,135 g der peroxidhaltigen Fraktion 4 konnten nach weiterer sc Trennung 11,5 mg der Verbindung **1** in Form eines grünen viskosen Öls isoliert werden, das eine positive Reaktion mit dem Peroxidreagenz zeigte.

Säule: l = 52 cm d = 1,55 cm

Eluent: Chloroform/Essigester 80/20, mit 0,5 ml Essigsäure pro Liter versetzt

Sorbens: 30 g Kieselgel 60

3.2.1.4 Verbindung **1** (7 α -Peroxy-7,8-dihydro-8(17)-dehydrogrindeliasäure)

Ausbeute: 11,5 mg (0,024% bez. auf den Rohextrakt)
R_F-Wert: 0,25 in Chloroform/ Essigester 83/17
[α]_D¹⁹ : +32,78° (c = 0,011, CHCl₃)
Reaktion mit Peroxidreagenz: direkte Blaufärbung
Reaktion mit Anisaldehydreagenz: Braunfärbung

IR-Spektrum $\tilde{\nu}$ (CHCl₃) cm⁻¹: 3520 m, 3280 s, 2920 s, 1735 s, 1450 m, 1380/1360 s, 1320 m, 1200/1220 s, 1000 s, 875 w

FAB-MS (Matrix: mNBA und Natriumacetat) m/z (%): 375,2 (4), 353,2 (13), 335,2 (15), 319,2 (100)

¹H-NMR-Daten (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 5.27 (s, H-17') und 5.15 (s, H-17), 4.61 (dd, H-7), 2.73 (d, H-14') und 2.46 (d, H-14), 2.17 (ddd, H-6), 2.06 (m, H-11/11'), 1.93 (m, H-12) und 1.85 (dt, H-12'), 1.83 (dd, H-5), 1.60 (m, H-1') und 1.45 (d, H-1), 1.57 (m, H-2) und 1.52 (m, H-2'), 1.55 (m, H-6'), 1.38 (d, H-3) und 1.20 (m, H-3'), 1.26 (s, C-16), 0.90 (s, C-18), 0.82 (s, C-19), 0.79 (s, C-20)

¹³C-NMR-Daten (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 172.5 (C-15), 143.9 (C-8), 117.1 (C-17), 92.0 (C-9), 87.8 (C-7), 81.5 (C-13), 48.9 (C-14), 41.6 (C-3), 41.5 (C-10), 41.1 (C-5), 38.6 (C-12), 33.4 (C-4), 33.3 (C-18), 31.8 (C-1), 26.4 (C-16), 26.2 (C-6), 25.5 (C-11), 21.8 (C-19), 19.0 (C-2), 17.0 (C-20)

3.2.2 Aufarbeitung des Dichlormethan-Rohextraktes II

3.2.2.1 Säulenchromatographische Trennung des Dichlormethanextraktes II

Der gelbe Blütenextrakt (15,12 g) wurde sc in 5 Sammelfractionen à 80 bis 120 ml aufgetrennt.

Säule: l = 33 cm d = 8 cm
Eluent: Chloroform/Essigester 75/25
Sorbens: 500 g Kieselgel 60

Fraktion	Menge [mg]	[%] bez. auf Rohextrakt
1	8141,0	53,84
2	213,2	1,41
3	6,8	0,04
4	150,0	0,99
5	237,3	1,57

Verbindung **2** konnte nach dc Analyse der Sammelfractionen 1-5 und nachfolgender Detektion mit Peroxidreagenz in Fraktion 5 nachgewiesen werden. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurden 0,237 g der peroxidhaltigen Sammelfraktion 5 erhalten.

3.2.2.2 Säulenchromatographische Trennung der Sammelfraktion 5

Das Gemisch von der Sammelfraktion 5 (237,3 mg) wurde erneut säulenchromatographisch aufgetrennt.

Säule: $l = 48 \text{ cm}$ $d = 2,2 \text{ cm}$

Eluent: Chloroform/Essigester 83/17

Sorbens: 55 g Kieselgel 60

Es wurden 38,7 mg ($R_F = 0,35$) eines Gemisches (5a) erhalten, das als weißer Feststoff anfiel.

3.2.2.3 Säulenchromatographische Trennung des Gemisches 5a

Nach sc-Trennung von 38,7 mg des Gemisches 5a

Säule: $l = 30 \text{ cm}$ $d = 1 \text{ cm}$

Eluent: Dichlormethan/Essigester 91/9

Sorbens 8 g Kieselgel 60

konnten 23,7 mg der Verbindung **2** in Form weißer Kristalle isoliert werden. Verbindung **2** ($R_F = 0,16$) zeigt nach dc Analyse eine positive Reaktion mit dem Peroxidreagenz.

3.2.2.4 Verbindung **2** (6 α -Peroxygrindelasäure)

Ausbeute: 23,7 mg (0,16 % bez. auf den Rohextrakt)

R_F -Wert: 0,16 in Dichlormethan/Essigester 91/9

Reaktion mit Peroxidreagenz: direkte Blaufärbung

Reaktion mit Anisaldehyd: Braunfärbung

IR-Spektrum $\tilde{\nu}$ (KBr) cm^{-1} : 3600-2500 m br, 3300 m, 2940/2910/2860 s, 1690 s, 1450/1370 m, 1090 m, 1010/980 m, 850 m

FAB-MS (Matrix: mNBA und Natriumacetat) m/z (%): 375,3 (7), 353,2 (9), 335,2 (40), 319,2 (77), 201,1 (100)

^1H -NMR-Daten (500 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 5.82 (dd, H-7), 4.40 (ddq, H-6), 2.63 (d, H-14') und 2.53 (d, H-14), 2.09 (d, H-5), 2.10 (m, H-11) und 2.02 (dd, H-11'), 2.02 (dd, H-12') und 1.95 (dd, H-12), 1.85 (ps, H-17), 1.53-1.65 (m, H-2/2'), 1.45-1.55 (m, H-1') und 1.42 (d, H-1), 1.38 (s, H-16), 1.37 (m, H-3) und 1.24 (m, H-3'), 0.90 (s, C-18), 0.82 (s, C-19), 0.79 (s, C-20)

^{13}C -NMR-Daten (125 MHz, CDCl_3) δ [ppm]: 172.1 (C-15), 139.3 (C-8), 128.4 (C-7), 91.3 (C-9), 81.3 (C-13), 80.8 (C-6), 47.2 (C-14), 44.7 (C-7), 44.0 (C-10), 42.6 (C-3), 34.5 (C-18), 33.6 (C-4), 33.3 (C-1 und C-12), 27.1 (C-11), 26.9 (C-16), 22.6 (C-19), 21.2 (C-17), 19.1 (C-20), 18.9 (C-2)

3.2.2.5 Säulenchromatographische Trennung der Sammelfraktion 1

Sammelfraktion 1 (8,141 g, $R_f = 0,32$) wurde in vier Fraktionen aufgetrennt:

Säule: $l = 33 \text{ cm}$ $d = 8 \text{ cm}$

Eluent: Chloroform

Sorbens: 580 g Kieselgel 60

Fraktion	Menge [g]	[%] bez. auf Rohextrakt
1a	0,215	1,42
1b	0,793	5,24
1c	2,723	18,00
1d	0,412	2,72

Fraktion 1c lieferte 2,723 g ($R_f = 0,23$) eines weißen kristallinen Produktes (Verbindung **3**).

3.2.2.6 Verbindung **3** ((-)-Grindeliasäure)

Ausbeute: 11,5 mg (0,024% bez. auf den Rohextrakt)

R_F-Wert: 0,25 in Chloroform/ Essigester 83/17

$[\alpha]_D^{20}$: -81,9° (c = 0,037, CHCl₃)

Reaktion mit Anisaldehydreagenz: Violettfärbung

IR-Spektrum $\tilde{\nu}$ (KBr) cm⁻¹: 3500-2880 m br, 2960-2880 s, 1710 s, 1460 w, 1380 m, 1095 m, 1020 w, 995 w

¹H-NMR-Daten (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 10.74 (s, H-15), 5.60 (s, H-7), 2.67 (d, H-14) und 2.54 (d, H-14), 2.11 (m, H-11) und 1.99 (m, H-11), 2.05 (m, H-6) und 1.84 (ddd, H-6), 1.94 (dd, H-12/12'), 1.75 (s, H-17), 1.61 (dd, H-5), 1.52 (m, H-2/2'), 1.52 (m, H-1) und 1.42 (m, H-1), 1.38 (m, H-3) und 1.17 (m, H-3), 1.36 (s, H-16), 0.88 (s, H-19), 0.85 (s, H-18), 0.81 (s, H-20)

¹³C-NMR-Daten (125 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 172.0 (C-15), 133.4 (C-8), 129.5 (C-7), 93.1 (C-9), 81.5 (C-13), 47.8 (C-14), 43.3 (C-5), 42.3 (C-3), 41.3 (C-10), 40.0 (C-12), 33.6 (C-4), 33.3 (C-18), 33.1 (C-1), 27.9 (C-11), 27.2 (C-16), 24.7 (C-6), 22.4 (C-19), 21.6 (C-17), 19.0 (C-2), 17.2 (C-20)

Die spektroskopischen Daten stehen im Einklang mit den Daten der Literatur [36], siehe Tabelle 29.

Tabelle 29 Vergleich der NMR-Werte von (-)-Grindeliasäure mit Literaturwerten

Nr.	δ_C [ppm] (-)-Grindelia- säure (125 MHz)	δ_H [ppm] (-)-Grindelia- säure (500 MHz)	δ_C [ppm]* (+)-Grindelia- säure (75 MHz) [36]	δ_H [ppm]* (+)-Grindelia- säure (300 MHz) [36]	δ_C [ppm] (-)-Grindelia- methylsäureester (125 MHz) [42]	δ_H [ppm] (-)-Grindelia- methylsäureester (500 MHz) [42]
1	33.1	1.52 m/ 1.42 m	32.9 (C-18)	m ⁺	1.58 dt/ 0.85 m	38.2
2	19.0	1.52 m	18.6	m ⁺	1.50 m	18.7
3	42.3	1.38 m/ 1.17 m	41.8	m	1.41 m	42.0
4	33.6	-	33.2	-	-	33.2
5	43.3	1.61 dd	42.6	m ⁺	1.63 dd	42.7
6	24.7	2.05 m/ 1.84 ddd	24.2	m ⁺	1.59 m/ 1.35 m	32.8
7	129.5	5.60 s	128.9	5.61 s	5.51 m	126.5
8	133.4	-	133.1	-	-	134.9
9	93.1	-	92.6	-	-	90.6
10	41.3	-		-	-	40.6
11	27.9	2.11 m/1.99 m	27.5	m ⁺	-	24.2
12	40.0	1.94 dd	39.5	m ⁺	2.02 m/ 1.82 ddd	29.5
13	81.5	-	81.1	-	-	81.6
14	47.8	2.67 d/ 2.54 d	47.4	2.68 d/ 2.56 d	2.75 d/ 2.61 d	48.2
15	172.0	10.74 s	172.0		-	171.9
16	27.2	1.36 s	26.8	1.38 s	1.33 s	21.3
17	21.6	1.75 s	21.2	1.76 s	1.76 s	26.6
18	33.3	0.85 s	32.9 (C-1)	0.87 s	0.90 s	32.9
19	22.4	0.88 s	22.0	0.90 s	0.87 s	21.3
20	17.2	0.81 s	16.7	0.82 s	0.81 s	16.7
OMe	-	-			3.65 s	51.4

* Fehlende Zuordnung der Verschiebungswerte bei Paquette et al.. Die Zuordnungen der δ -Werte zu den entsprechenden H- bzw. C-Atomen wurden von der Verfasserin dieser Arbeit getroffen und basieren auf der Ähnlichkeit der Verschiebungswerte mit den eigenen Untersuchungsergebnissen und denen von Rivero-Cruz et al..

m⁺: 2.17-1.12, Serien von m, 13 H

3.3 Photooxidation von Grindeliasäure

3.3.1 Arbeitsvorschriften

3.3.1.1 Arbeitsvorschrift mit einem Hg-Hochdruckstrahler

In einer 600 ml Belichtungsapparatur mit interner UV-Lampe, bodenständiger Glasfritte zur Sauerstoffeinleitung und Rückflusskühler wurde eine Lösung von *400 mg (1.25 mmol)* (-)-Grindeliasäure* und *30 mg** Bengal Rosa (gelöst in 50 ml Methanol) in 500 ml *Chloroform** eingebracht. Die Lösung wurde durch einen Cryostaten mittels einer die UV-Lampe umgebenden Kühlfalle auf -4 °C * gekühlt. Nach Erreichen der Temperatur wurde moderat Sauerstoff durch die Lösung geleitet und die UV-Lampe eingeschaltet. Die Umsetzung wurde jede Stunde mittels DC auf die Bildung von Peroxiden überprüft (LM: *Chloroform**, Detektion: Peroxidreagenz, Anisaldehyd). Die Reaktion wurde nach ausreichender Peroxidbildung abgebrochen, um eine eventuelle Zersetzung des Peroxides bei weiterer Reaktionsdauer zu vermeiden. Die Reaktionslösung wurde vorsichtig auf dem Wasserbad bei $+25\text{ °C}$ im Vakuum eingedampft.

* wechselnde Parameter, siehe Tabelle 30

Tabelle 30: Verschiedene Parameter, die bei der Photooxidation verwendet wurden

Nr.	Grindeliasäure (Edukt)	Produkt (Rkt.– Gemisch)	Dauer	Temperatur	Lösungsmittel (LM)	Sensitizer (Bengal- Rosa)
1	400 mg	546 mg	6,5 h	-4 °C	CHCl_3	30 mg
2	4000 mg	4520 mg	18,0 h	-4 °C	CHCl_3	178 mg
3	818 mg	884 mg	34,0 h	-4 °C	CHCl_3	70 mg
4	340 mg	460 mg	20,0 h	-4 °C	CHCl_3	40 mg
5	159 mg	254 mg	20,0 h	$+1,5\text{ °C}$	CH_2Cl_2	20 mg
6	310 mg	465 mg	36,0 h	$+3\text{ °C}$	CH_2Cl_2	31 mg

3.3.1.2 Arbeitsvorschrift mit einem Hg-Mitteldruckstrahler

In einer 600 ml Belichtungsapparatur mit interner UV-Lampe, seitlicher Sauerstoffeinleitung und Rückflusskühler wurde eine Lösung von 448 mg (1.40 mmol)* (-)-Grindeliasäure und 44 mg* Bengal-Rosa (gelöst in 50 ml Methanol) in 500 ml *Dichlormethan** eingebracht. Die Lösung wurde durch Wasserkühlung mittels einer die UV-Lampe umgebenden Kühlfalle auf +8 bis +10 °C gekühlt. Nach Erreichen der Temperatur wurde moderat Sauerstoff durch die Lösung geleitet und die UV-Lampe eingeschaltet. Die Umsetzung wurde jede Stunde mittels DC auf die Bildung von Peroxiden überprüft (LM: *Dichlormethan**, Detektion: Peroxidreagenz, Anisaldehyd). Die Reaktion wurde nach ausreichender Peroxidbildung abgebrochen, um eine eventuelle Zersetzung des Peroxides bei weiterer Reaktionsdauer zu vermeiden. Die Reaktionslösung wurde vorsichtig auf dem Wasserbad bei + 25 °C im Vakuum eingedampft.

* wechselnde Parameter, siehe Tabelle 31

Tabelle 31: Verschiedene Parameter, die bei der Photooxidation verwendet wurden

Nr.	Grindeliasäure (Edukt)	Produkt (Rkt.– Gemisch)	Dauer	Temperatur	Lösungsmittel (LM)	Sensitizer (Bengal-Rosa)
7	448 mg	611 mg	1,3 h	+8 bis +10 °C	CH ₂ Cl ₂	44 mg
8	800 mg	897 mg	3,8 h	+8 bis +10 °C	CH ₂ Cl ₂	77 mg
9	400 mg	508 mg	1,5 h	+8 bis +10 °C	CH ₂ Cl ₂	11 mg
10	389 mg	374 mg	1,5 h	+8 bis +10 °C	CCl ₄	1 mg m-Tetra- phenylporphin

3.3.2 Ergebnisse der Photooxidationen

Tabelle 32: Ergebnisse der Photooxidationen

Nr.	Peroxid- bildung	Anzahl entstan- dener Banden	R _F -Wert und Fließmittel	Kommentar
1	ja	2	0.71 und 0.65 CHCl ₃ /EE 98/2	-
2	ja	3	0.51; 0.42; 0.05 CHCl ₃ /EE 98/2	Grindeliasäure (GS) hat nicht vollständig abreagiert
3	ja	1	0.10 CHCl ₃ /EE 98/2	GS hat vollständig abreagiert, weitere Reaktion führte zum Verlust des Peroxides
4	ja	2	0.24; 0.18 CHCl ₃ /EE 98/2	GS hat nicht vollständig abreagiert Banden nur sehr schwach blau gefärbt
5	ja	2	0.67; 0.58 CHCl ₃ /EE 98/2	GS hat nicht vollständig abreagiert
6	ja	2	0.83; 0.82, CHCl ₃	GS hat nicht vollständig abreagiert
7	ja	2	0.16; 0.04, CHCl ₃	GS hat nicht vollständig abreagiert
8	ja	2	0.18; 0.60 PE/EE 95/5	GS hat nicht vollständig abreagiert
9	ja	2	0.05; 0.02 CHCl ₃ /EE 90/10	GS hat nicht vollständig abreagiert
10	nein	-	-	GS hat vollständig abreagiert

3.3.3 Aufreinigung der Photooxidationsprodukte

Das Reaktionsgemisch wurde über Kieselgel in dem jeweils geeigneten Fließmittel (Tabelle 32) getrennt. Nach Vereinigung und Eindampfen der peroxidhaltigen Fraktionen im Vakuum bei RT wurden Sammelfractionen erhalten, aus denen jedoch aufgrund von Instabilität bzw. zu geringer Konzentration kein Peroxid isoliert werden konnte.

4 Zusammenfassung

Grindelia robusta, eine in Nordamerika beheimatete Asteraceae, wird gegen verschiedene Erkrankungen des Respirationstraktes angewandt (Asthma, Bronchitis). In der homöopathischen Literatur wird sie außerdem gegen chronische Malaria empfohlen.

Zu den Inhaltsstoffen von *Grindelia robusta* zählen Diterpene, Acetylenverbindungen, Phenole, Sapogenine, Flavonoide und flüchtige Bestandteile. Eigene Untersuchungen deuteten darüber hinaus auf das Vorkommen von Peroxiden hin, eine Stoffklasse, die in den letzten Jahren aufgrund ihrer unterschiedlichen pharmakologischen Aktivität zunehmend an Bedeutung gewonnen hat. In diesem Zusammenhang ist insbesondere die überragende Anti-Malaria-Aktivität des Artemisinin (Quinghasou), eines aus *Artemisia annua* isolierten Endoperoxids hervorzuheben.

Im Rahmen dieser Arbeit gelang erstmals die Isolierung und Charakterisierung von Peroxiden aus *Grindelia robusta*.

Pflanzenmaterial von *Grindelia robusta* wurde durch den Botanischen Garten der Universität Bonn zur Verfügung gestellt bzw. während der Vegetationsperiode 1998/ 90 im Versuchsgarten der Pharmazeutischen Biologie und im Garten des Pharmazeutischen Institutes aus Samenmaterial angezogen. Aus dem Dichlormethanextrakt von *Grindelia robusta* konnten säulenchromatographisch die beiden Hydroperoxide 7 α -Peroxy-7,8-dihydro-8(17)-engrindeliadäure (Verbindung **1**) und 6 α -Peroxy-grindelasäure (Verbindung **2**) isoliert werden. In der Literatur wurde die Struktur des Peroxides 7 α -Peroxy-7,8-dihydro-8(17)-engrindelasäure (Verbindung **1**) bereits erwähnt, vollständige spektroskopische Daten (IR-, Masse-, Kernresonanzspektren) wurden bisher jedoch nicht veröffentlicht.

Die Strukturaufklärung der beiden isolierten Peroxide (Verbindung **1** und **2**) erfolgte mit Hilfe spektroskopischer Methoden (FAB-MS, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, HMQC, HMBC, HH-COSY, ROESY). Die entsprechenden Alkohole der Verbindungen **1** und **2** wurden bereits in der Literatur beschrieben. Eine Gegenüberstellung der kernresonanzspektroskopischen Daten (¹H-NMR, ¹³C-NMR) der Verbindung **2** mit dem korrespondierenden Alkohol zeigte eine nahezu vollständige Übereinstimmung und legt die Vermutung nahe, dass es sich bei dem in der Literatur beschriebenen Alkohol um das in dieser Arbeit beschriebene Peroxid, 6 α -Peroxygrindelasäure, handelt.

Zur Absicherung der Struktur von Verbindung **1** und zur Bereitstellung größerer Mengen zur Untersuchung auf biologische Aktivität wurde versucht, diese ausgehend von Grindelasäure, dem Hauptinhaltsstoff von *Grindelia robusta* mittels Photooxidation darzustellen. Bei diesen

Photooxidationsversuchen konnte jedoch weder Verbindung **1** nachgewiesen noch isoliert werden.

Untersuchungen der aus *Grindelia robusta* isolierten Verbindungen **1** und **2** bezüglich ihrer biologischen Aktivität sind noch nicht abgeschlossen.

5 Literaturverzeichnis

- 1 D.A.Casteel, *Nat.Prod.Rep.* **1992**, 9, 289-312
- 2 D.A.Casteel, *Nat.Prod.Rep.* **1999**, 16, 55-73
- 3 "Fourth Meeting of the Scientific Working Group on the Chemotherapy of Malaria",
Beijing, People's Republic of China,
WHO Report TDR/Chemical-SWG (4)/QHS/81.3, S. 5
- 4 J.O'Neill et al., *Planta Med.* **1985**, S. 394-397
- 5 *Bayer research* **2002**, 14, 74-79
- 6 D.J. Newman, G.M. Cragg, K.M. Snader, *Nat.Prod.Rep.* **2000**, 17, 215-234
- 7 M.A. Avery, P. Fan, J.M. Karla, J.D. Bonk, R. Miller, D.K. Goins, *J.Med.Chem.* **1996**,
39, 1885-1897
- 8 M.A. Avery, S. Mehrotra, J.D. Bonk, J.A. Vroman, D.K. Goins, R. Miller, *J.Med.Chem.*
1996, 39, 2900-2906
- 9 M.A. Avery, S. Mehrotra, T.L. Johnson, J.D. Bonk, J.A. Vroman, R. Miller, *J.Med.Chem.*
1996, 39, 4149-4155
- 10 G. Rücker, R.D. Walter, D. Manns, R. Mayer, *Planta Med.* **1991**, 57, 295
- 11 K.A.El Sayed, M.T. Hamann, N.E. Hashish, W.T. Shier, M. Kelly, A.A. Khan,
J.Nat.Prod. **2001**, 64, 4, 522-524
- 12 G.H.Posner, H. O'Dowd, P. Ploypradith, J.N. Cumming, S. Xie, T.A. Shapiro,
J.Med.Chem. **1998**, 41, 2164-216
- 13 W.Boericke, *HomöopathischeMittel und ihre Wirkungen* **2000**, 6. Auflage, 233
www.homeoint.org/books/boericmm/g/grin.htm
- 14 B.N. Timmermann, S.P. McLaughlin, J.J. Hoffmann, *Biochem. Syst. Ecol.* **1987**, Vol.15,
No.4, 401-410
- 15 Hagers Handbuch d. Pharmazeut. Praxis, Folgeband 2, Springer Verlag Berlin Heidelberg
1998
- 16 B. Hohmann, **1967**, 3, 255-263
- 17 J. Cullen, *The European Garden Flora*, Vol. VI, 565-566, University Press Cambridge
2000
- 18 G. Hegi, *Illustrierte Flora von Mitteleuropa* **1979**, Bd. IV, Teil 3, 13-16, Verlag Paul
Parey, Berlin Hamburg, **1979**
- 19 J.J. Hoffmann, B.E. Kingsolver, S.P. McLaughlin, B.N. Timmermann, *Recent Adv.*
Phytochemistry **1984**, 251-271

- 20 A.F. Rose, K.C. Jones, W.F. Haddon, D.L. Dreyer, *Phytochemistry* **1981**, 20, 2249-2253
- 21 Homöopathisches Arzneibuch 2002, Dt. Apotheker Verlag Stuttgart, **2001**
- 22 Hagers Handbuch d. Pharmazeut. Praxis **1973**, IV Band, Springer Verlag Berlin Heidelberg
- 23 Rote Liste, ECV Aulendorf, **2003**
- 24 M.N. Newton, L.A. Espinar, N.R. Grosso, M.P. Zumino, D.M. Maestri, J.A. Zygadlo, *Planta Med.* **1998**, 64, 470-473
- 25 B. Timmermann, E. Wollenweber, M. Dörr, S. Armbruster, K.M. Valant-Vetschera, E.R. Fuentes, *Zeitschrift f. Naturforschung* **1994**, Bioscience C, 49 (5-6), 395-397
- 26 S. Kreutzer, O. Schimmer, R. Waibel, *Planta Med.* **1990**, 56, 392-394
- 27 G.Kaltenbach, O.Schimmer, *Planta Med.* **1991**, Suppl. Issue 2, 57, A 82
- 28 B.Gehrmann, M.F.Melzig, *Deutsche Apotheker Zeitung* **2002**, 46, 69-75
- 29 L. Panizzi, L. Mangoni, M. Belardini, *THL* **1961**, No. 11, 376-381
- 30 P. Busch: Über das Vorkommen von Polyacetylen-Verbindungen in *Grindelia robusta* und *Valeriana officinalis*, *Dissertation*, Universität Münster, **1963**
- 31 M. Pinkas, N. Didry, M. Torck, L. Bézanger, J.-C. Cazin, *Ann.pharm.franc.* **1978**, 36, n°3-4, 97-104
- 32 W. Huber, E. Fröhlke, *Chromatographia* **1972**, 5, 256-257
- 33 W. Otting, *Spektrale Zuordnungstafel der Infrarot-Absorptionsbanden* **1963**, Springer Verlag Berlin Göttingen Heidelberg
- 34 Hesse, Meier, Zeeh, *Spektroskopische Methoden i.d. organischen Chemie* **1987**, Georg Thieme Verlag Stuttgart
- 35 M.González Sierra, M.I. Colombo, M.E. Zudenigo, E.A. Ruveda, *Phytochemistry* **1984**, 23, 1685-1688
- 36 L.A. Paquette, H.L- Wang, *J.Org.Chem.* **1996**, 61, 5352-5357
- 37 B.N.Timmermann, D.R. Luzbetak, J.J. Hoffmann, S.D. Jolad, K.H. Schram, R.B. Bates, R.E. Klenck, *Phytochemistry* **1983**, 22, 523-525
- 38 F.Bohlmann, M. Ahmed, N. Borthakur, M. Wallmeyer, J. Jakupovic, R.M. King, H. Robinson, *Phytochemistry* **1982**, 21, 167-172
- 39 H.G.O.Becker, *Einführung in die Photochemie* **1983**, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York
- 40 Günther von Büнау, Thomas Wolff, *Photochemie - Grundlagen, Methoden, Anwendungen*, **1987**, VCH Verlagsgesellschaft mbH
- 41 M.González-Sierra, M-I- Colombo, A.C. Olivieri, M.E. Zudenigo, E.A. Ruveda, *J.Org.Chem.* **1984**, 49, 4984-4988

- 42 I. Rivero-Cruz, J.L. Trejo, M.I. Aguilar, R. Bye, R. Mata *Planta Medica* **2000**, 66, 734-739